

THESIS

MÜNICH

1967

ÜBER DIE FSH-AKTIVITÄT
VERSCHIEDENER HYPOPHYSÄRER
UND EXTRAHYPOPHYSÄRER
GONADOTROPINE

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

DAVID LIANG-TIE LOEY

Aus der I. Frauenklinik und Hebammenschule der
Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Bickenbach

ÜBER DIE FSH-AKTIVITÄT
VERSCHIEDENER HYPOPHYSÄRER UND EXTRAHYPOPHYSÄRER
GONADOTROPINE

INAUGURALDISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde in der
gesamten Medizin
verfasst und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
David Liang-Tie OEY
aus
Indonesien
München 1967

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Professor Dr. W. Bickenbach

Dekan: Professor Dr. M. Kiese

Tag der mündlichen Prüfung: 14. März 1967

Herrn Prof. Dr. W. Bickenbach und Herrn Prof. Dr. R. Kaiser danke ich für ihre stets wohlwollende Interesse an der Arbeit und Arbeitsplatz im Hormonlaboratorium der I. Frauenklinik und Hebammenschule der Universität München, wodurch die Untersuchungen ermöglicht wurden.

Herrn Dr. E. Daume danke ich für die Überlassung des Themas, Einarbeitung und Hilfe bei der Formulierung der Arbeit.

Frau G. Rode (geb. Hayn) danke ich für ihre stets bereite Hilfe, die für den Fortschritt der Arbeit entscheidend beigetragen hat.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

INHALTVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG	1
B. DIE GONADOTROPINE	3
I. VORKOMMEN	4
II. EIGENSCHAFTEN	6
1. Hypophysäre Gonadotropine	7
a) Menschliche hypophysäre Gonadotropine.	7
i) Aus Hypophysen	7
ii) Aus Urin (HMG)	7
b) Tierische hypophysäre Gonadotropine	8
i) Aus Schweinehypophysen	8
ii) Aus Schafhypophysen	8
2. Extrahypophysäre Gonadotropine	9
a) Humanes Choriongonadotropin (HCG)	9
b) Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin (PMS)	10
C. BIOLOGISCHE TESTVERFAHREN FÜR FSH	11
D. STANDARDPRÄPARATE	14
1. a) 261-151-X	15
b) NIH-FSH-S ₁	15
c) NIH-FSH-S ₃	15
2. a) HMG 24 (1.IRP)	16
b) Pergonal 23	16
c) 2.IRP-HMG	17
3. Internationaler Standard für HCG	17
4. Internationaler Standard für PMS	17
E. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	18
I. PROBLEMATIK	18
II. METHODIK UND TIERMATERIAL	19
1. Der Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953)	19

a) Prinzip	19
b) Testanordnung	19
c) Herstellung der Testlösung	19
d) Auswertung	19
2. Der Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) an hypophysektomierten, hemiorchi- dektomierten, juvenilen Rattenmännchen	20
a) Prinzip	21
b) Testanordnung	21
c) Herstellung der Testlösung	22
d) Auswertung	22
III. STATISTISCHE AUSWERTUNG	23
Auswertungsbeispiel von sechsmal sechs Ratten nach dem Sechspunkt-System	24
Auswertungsbeispiel von fünfmal sechs Ratten nach dem Fünfpunkt-System	32
IV. ERGEBNISSE	37
1. Ergebnisse mit dem Test nach Steelman und Pohley (1953)	37
a) Auswertungsergebnisse verschiedener Substanzen im Vergleich gegen den Standard NIH-FSH-S ₁	44
2. Ergebnisse mit dem Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951)	45
a) NIH-FSH-S ₃ Standard in Dosen von 12.5 γ , 25 γ , 100 γ , 400 γ u. 800 γ	51
b) FSH-Aktivität von Standardpräparate	53
c) FSK-Aktivität vom Stutenserumgonadotropin (PMS).	58
d) FSH-Aktivität vom menschlichen postmeno- pausen Gonadotropin (HMG).	61
e) FSH-Aktivität eines Gonadotropins, das aus Schafhypophysen hergestellt	69
f) FSH-Aktivität vom Human-Hypophysen- Gonadotropin	73

g)	Auswertungsergebnisse verschiedener	
	Präparate im Vergleich gegen den	
	Standard NIH-FSH-S ₃	81
h)	Auswertungsergebnisse verschiedener	
	Präparate im Vergleich gegen den	
	Standard 2.IRP	82
F.	DISKUSSION DER ERGEBNISSE	83
G.	ZUSAMMENFASSUNG	90
H.	LEBENS LAUF	91
I.	LITERATURVERZEICHNIS	92
ANMERKUNG		104

A. EINLEITUNG

Nach der Entdeckung der Gonadotropine im Schwangerenurharn 1927/1928 durch Aschheim und Zondek wurden in den darauffolgenden Jahren die grundlegenden Erkenntnisse gewonnen, daß Gonadotropine einmal von Hypophysenvorderlappen und zum anderen von der Plazenta gebildet werden. An Versuchstieren, wie z.B. Ratte, Maus, Meerschweinchen und Kaninchen führten sowohl hypophysäre als auch plazentare Gonadotropine zu einer Stimulation der Ovarien. Die Abhängigkeit der Ovarialfunktion von der übergeordneten Steuerung durch die Gonadotropine wurde erkannt und man unterschied experimentell bald zwei Wirkungen der Gonadotropine, die Stimulation der Follikelreifung und die der Gelbkörperbildung.

Für die Anregung einer ungenügenden oder ruhenden Ovarialfunktion beim Menschen wurden zwei Präparate hergestellt: Stutenserumgonadotropin (PMS) als Follikelreifungshormon, menschliches Choriongonadotropin (HCG) als Luteinisierungshormon. Die Präparate wurden bis vor wenigen Jahren ausschliesslich zur direkten Stimulation der Ovarien beim Menschen verwendet, die Erfolge waren sehr unterschiedlich. Ein Fortschritt wurde mit der Gewinnung menschlicher hypophysärer Gonadotropine erzielt, die sowohl aus Hypophysen direkt als auch aus dem Harn von Frauen nach der Menopause isoliert werden können.

Die gebräuchliche Aktivitätsbestimmung dieser Hormone erfolgte mit dem Mausuterustest, der die sogenannten biologische Gesamtaktivität angibt, die jedoch keine Rückschlüsse auf die anteiligen FSH- und LH-Aktivitäten erlaubt.

Bei Versuchen am Menschen mit diesen hypophysären Gonadotropinen Ovulation auszulösen, hat sich bald gezeigt, daß für die Dosierung nicht die Gesamtaktivität, sondern FSH-Aktivität ausschlaggebend ist.

Um einen Überblick über die spezifische FSH-Aktivität verschiedener Gonadotropine zu erhalten erschien es deshalb interessant, übliche ältere und neuere Präparate z.T. Versuchspräparate auf ihre FSH-Aktivität zu untersuchen, zumal meist keine Angaben über die FSH-Aktivität dieser Substanzen gemacht werden. Zusätzlich wurden Präparate aus menschlichen Hypophysen und aus tierischen Hypophysenvorderlappen untersucht. Die Aktivitäten wurden auf Standardsubstanzen des NIH (National Institute of Health, Bethesda, Md., U.S.A.) und auf den 2.IRP (Second International Reference Preparation for Human Menopausal Gonadotrophins, Mill Hill, London, N.W. 7) Standard bezogen.

B. DIE GONADOTROPINE

Gonadotropine sind Wirkstoffe oder Hormone, die die sexuelle Entwicklung und Funktion stimulieren und regulieren. Sie sind geschlechtsunspezifisch und wirken nur auf und über die Gonaden, d.h. sie regen das Wachstum der Ovarien und Hoden an und rufen die Follikelreifung und Korpusluteumbildung bei dem weiblichen Geschlecht und die Spermatogenese bei dem männlichen Geschlecht hervor. Fehlt diese gonadotrope Anregung, so kommt es beim geschlechtsreifen Wesen zur Atrophie der Gonaden und der Geschlechtsorgane und beim Jugendlichen unterbleibt die sexuelle Entwicklung. Diese Ausfallserscheinung bzw. dieser Entwicklungsrückstand kann durch Zufuhr von Hypophysenextrakten wieder aufgehoben bzw. nachgeholt werden.

Es sind drei verschiedene Gonadotropine nach ihren gonadotropen Aktivitäten zu unterscheiden: a) das follikelstimulierende Hormon (FSH), b) das die interstitiellen Zellen stimulierende oder luteinisierende Hormon (ICSH oder LH) und c) das luteotrope Hormon (LTH). Die ersten beiden können als eigentliche Gonadotropine angesprochen werden, während das dritte über eine gewisse gonadotrope (luteotrope) Aktivität hinaus eine Reihe von weiteren biologischen Effekten hervorruft, die nicht direkt mit der gonadären Funktion in Zusammenhang stehen.

Bisher liegt noch keine gonadotrope Substanz in chemisch reiner Form vor. Aus diesem Grund werden Gonadotropine biologisch und nicht chemisch definiert. Diese Definition erfordert eine scharfe Abgrenzung zwischen dem

biologischen Konzept FSH oder ICSH oder LTH und den sog. „FSH“- oder „ICSH“- oder „LTH“- Präparationen, die aus biologischem Material gewonnen wurden. Das biologische Konzept entspricht definitionsmässig nur einer Art gonadotroper Aktivität; die Präparationen weisen zwar überwiegend eine Art von gonadotroper Aktivität auf, sind im allgemeinen aber mit anderen verunreinigt (z.B. FSH mit ICSH oder umgekehrt). Darüber hinaus lassen sich manchmal in solchen Präparationen unterschiedliche Mengen an anderen hypophysären Hormonen nachweisen.

I. VORKOMMEN

Gonadotropine werden normalerweise in der Hypophyse und in der Plazenta gebildet. Unter pathologischen Bedingungen können sie auch an anderer Stelle (Blasenmole, Chorionepitheliom und Seminom) produziert werden. Während der Schwangerschaft sind grosse Mengen Gonadotropin placentaren Ursprungs in Urin und Plasma vorhanden. Gonadotropine hypophysären Ursprungs werden in der Geschlechtsreife, in grösseren Mengen besonders nach der Menopause und bei kastrierten Personen mit dem Harn ausgeschieden und können aus diesem gewonnen werden.

Die Pars distalis der Adenohypophyse wird als der Produktionsort der drei hypophysären Gonadotropine FSH, ICSH und LTH (und auch der anderen Hypophysenvorderlappenhormone wie ACTH, STH und TSH) angesehen. Histologisch lassen sich drei klassische Zelltypen im Vorderlappen durch ihre Affinität für verschiedenen Farbstoff voneinander unterscheiden: a) die azidophilen oder eosinophilen oder α - und ϵ - Zellen nach Romeis (1940), b) die basophilen oder zyanophilen oder β - und δ - Zellen nach

Romeis und c) die chromophoben oder γ -Zellen nach Romeis; sie machen durchschnittlich rund je 39%, 11% und 50% der Vorderlappenzellpopulation aus.

Über die Zuordnung der einzelnen tropen Hormone zu den verschiedenen Zelltypen als Bildungsstätten ist die Diskussion noch nicht abgeschlossen (vgl. Romeis 1940, Cowie und Polley 1955, Tonutti 1956, Racadot 1961, Dhom und Tietze 1962, Gusek 1962, Merlant 1962 und Holmes 1963).

Die azidophilen α -Zellen gelten als Bildungsstätten von STH und LTH (Barrnett et al. 1961). Den basophilen (zyanophilen) β -Zellen, insbesondere den sog. hypozyanophilen δ -Zellen, wird die Biosynthese von FSH und ICSH (Farquhar und Rinehart 1954, Swanson und Ezrin 1960, Girons 1961 und Sokol 1961) zugeschrieben. Andere basophile Zellen lassen sich von jenen dadurch unterscheiden, daß sie ausserdem auch auf Aldehyd-Fuchsin reagieren. Sie sollen die TSH-Bildner sein (Griesbach 1953). Als ACTH-Produzenten sehen einige Autoren die azidophilen, andere Untersucher die basophilen Zellen an (vgl. Kief 1956, Kracht 1957 und Ezrin et al. 1959).

Nach neuesten Untersuchungen (Merlant 1962) soll die FSH-Bildung durch die basophilen β -Zellen erfolgen, die ICSH-Synthese durch die chromophoben γ -Zellen. LTH soll von den azidophilen α -Zellen synthetisiert werden, die aus den γ -Zellen entstehen. Dagegen wird die ACTH- und STH-Bildung den α -Zellen und die TSH-Bildung den δ -Zellen zugesprochen.

Für das extrahypophysäre Humane Choriongonadotropin (HCG), das insbesondere in den ersten drei Monaten der Schwangerschaft im Urin und Plasma in grossen Mengen vorhanden ist, werden die Langhans-Zellen der Plazenta-

zotten als Bildungsstätte angesehen.

Ein weiteres extrahypophysäres Gonadotropin ist das aus dem Serum trächtiger Stuten gewinnbare Stutenserumgonadotropin (pregnant mare's serum gonadotrophin = PMS).

Es wird ebenfalls von der Plazenta gebildet.

II. EIGENSCHAFTEN

Die chemische Analytik und Synthese von hochmolekularen Proteinen befinden sich trotz der grossen Fortschritte der letzten Zeit noch in den Anfangsstadien. Das trifft auch für das Gebiet der gonadotropen Hormone zu. Seit den Arbeiten von Fraenkel-Conrat et al. (1939), Li et al. (1940a), Shedlovsky et al. (1940), Greep et al. (1942) u.v.a. sind weitere Versuche zur besseren Aufarbeitung von Gonadotropinen gemacht worden, wie z.B. die Verwendung von elektrophoretischen und chromatographischen Analysen zur Eliminierung von Begleitproteinen. Diese Verfahren wurden in den letzten Jahren auch für die Isolierung von FSH- bzw. ICSH-Präparaten aus den tierischen Hypophysen eingesetzt. Trotzdem steht die endgültige Isolierung eines reinen Gonadotropins, entsprechend dem biologischen Konzept noch aus. Die sog. reinen FSH-Präparate enthalten immer noch ICSH- (LH-) und im Spuren andere Aktivität, und vice versa.

Auf Grund biologischer Überprüfung kamen Albert und Kelly (1958) zu dem Schluss, daß menschliches hypophysäres Gonadotropin nicht identisch mit „FSH“ aus Schafhypophysen ist. Ob dieser Befund zusammen mit den Unterschieden im Molekulargewicht, im isoelektrischen Punkt und im Sedimentationskoeffizienten auf speziesspezifische Besonderheiten oder auf rein methodische Ursachen zurückzuführen ist, muss solange offenbleiben, bis reine Präparate isoliert sind.

1. Hypophysäre Gonadotropine

a) Menschliche Hypophysäre Gonadotropine

i) Aus Hypophysen

Als gesichert kann gelten, daß die Gonadotropine chemisch in die Gruppe der Glykoproteide gehören. Übereinstimmend fanden Groeschel und Li (1960), Bettendorf et al. (1961) und Bettendorf (1962) in angereicherten FSH- und ICSH-Präparaten als Hexosen Galaktose und Mannose, als Pentose Fucose, als Polyoxyaminosäure Sialinsäure und als Aminosucker Glucosamin. Galaktosamin war, mit Ausnahme des FSH-Präparates von Groeschel und Li, ebenfalls vorhanden. Groeschel und Li gaben für das „FSH“ ca. 7% und für das „ICSH“ ca. 4.5% Zuckeranteil an. Bettendorf et al. fanden im HHG einen Zuckeranteil von ca. 15% Li et al. (1960) gaben für ihr FSH-Präparat einen Sedimentationskoeffizienten von 1.67 S, Butt et al. (1962a) 1.67 S und 3.07 S an. Für die ICSH-Präparate berechneten Butt et al. (1963) einen Koeffizienten von 4.17 S und Li (1960) von 2.14 S. Dagegen gaben Squire et al. (1962) für ihr ICSH-Präparat einen Sedimentationskoeffizienten von 2.71 S, einen isoelektrischen Punkt von 5.4 und ein Molekulargewicht von 27000 an. Bettendorf et al. gaben für ihr HHG aber ein Molekulargewicht von 50000 an.

ii) Aus Urin (HHG)

Einen Fortschritt für die biologische Charakterisierung der im Harn ausgeschiedenen Gonadotropine brachten die Arbeiten von Segaloff und Steelman (1959), Butt et al.

(1959, 1961a), Bourrillon et al. (1959c, 1960) und Albert et al. (1961a,b; 1962). Die FSH-Charge von Segaloff und Steelman erwies sich elektroporetisch, chromatographisch und in der Ultrazentrifuge als einheitlich; ihr Molekulargewicht betrug 30000, und sie besaß noch eine ICSH-Aktivität. Bourrillon et al. gaben für ihr Endprodukt einen Zuckergehalt von 15.5% Hexosen, 10.5% Hexosamine und 8.5% Sialinsäure an. 1 µg des Wirkstoffes führt bei infantilen Mäusen zu einem Anstieg des Uterusgewichtes um 100%. Butt et al. gaben für ihre Extrakte aus dem Urin von Frauen in der Postmenopause, die überwiegend FSH-Aktivität aufweisen, einen Sedimentationskoeffizient von 1.64 S an. Albert et al. fanden ihr Endprodukt aus dem Urin von Eunuchen 140mal aktiver als HMG 20A.

b) Tierische Hypophysäre Gonadotropine

i) Aus Schweinehypophysen

Shedlovsky et al. (1940) fanden in ihrem Präparat mit überwiegender ICSH-Aktivität ein Molekulargewicht von 100000 und einen IP von 7.45. Steelman und Segaloff (1959) gaben für ihr „FSH“-Präparat ein Molekulargewicht von 29000, einen IP von 5.1, einen Cysteingehalt von 6.5% und einen Zuckergehalt von 7.4% an, wobei erstmalig Fucose isoliert werden konnte. Sialinsäure wurde dagegen nicht gefunden.

ii) Aus Schafhypophysen

Li et al. (1940a) fanden aus ihrem „ICSH“-Präparat ein

Molekulargewicht von 40000 und einen IP von 4.5. Ellis (1958) wies am N-terminalen Ende des Moleküls Threonin und Valin im Verhältnis von 1:1 nach. Squire und Li (1959) konnten zwei, α - und β -, ungefähr gleich aktive ICSH-Chargen gewinnen. Die β -Charge erwies sich chromatographisch als weitgehend einheitlich. Ihr Molekulargewicht wurde mit 30000, der IP mit 7.3 angegeben. Dagegen kamen Ward et al. (1959) bei vergleichbaren Untersuchungen zu einem Molekulargewicht von 28000 und einem 8%igen Glucosamingehalt.

Für ein „FSH“ aus Schafhypophysen berechneten Li und Pedersen (1952) ein Molekulargewicht von 67000 und einen IP von 4.5. Das FSH-Präparat von Woods und Simpson (1960) weist eine FSH-Aktivität von 25-30mal aktiver als NIH-FSH-S₁ auf. Es enthält noch ICSH-Aktivität.

2. Extrahypophysäre Gonadotropine

a) Humanes Choriongonadotropin (HCG)

Auf Grund der Angaben von Got et al. (1959), Got (1960), Nydik et al. (1964) kommt Lauritzen (1966) zu der Annahme, daß das in der Plazenta produzierte Glykoproteid Choriongonadotropin (HCG) nicht, wie früher angenommen, ein Molekulargewicht von 100000 (Gurin, Bachman und Wilson; 1940), sondern von etwa 30000 (Got, 1959) hat. Schumacher et al. (1960) gaben 25000 als Molekulargewicht für HCG an, Blobel et al. (1962) fanden 57000.

Nach Morris (1955) wurden an Aminosäuren Tyrosin (5.1%), Arginin (3.84%), Tryptophan (0.8%), ferner Histidin, Glycin, Threonin, Cystin, Lysin, Phenylalanin, Prolin, Isoleucin und Methionin und nach Schumacher et al. (1960)

Tyrosin (2%), Arginin (6.2%), Histidin (2.6%), Glycin (9.7%), Threonin (7.4%), Lysin (4.6%), Phenyl (3.2%), Alanin (7.4%), Prolin (10.6%), Leucin (6.1%), Isoleucin (2.6%), Methionin (1.4%), Asparagin (10.2%), Serin (8.9%), Glutamin (11.2%) und Valin (5.6%) nachgewiesen.

Die Zuckeranteile des Choriongonadotropin sind je 5.5% für Galaktose und Mannose, 1.2% Fucose, 7.0% Glucosamin, 1.7% Galaktosamin und 8.5% Sialinsäure (Bourrillon, Got et al.; 1957, 1958). Schumacher et al. (1960) sowie Blobel et al. (1962) fanden 10% Hexose, 12% Hexosamin und 6% Neuraminsäure.

Gurin et al. (1939, 1940), Katzmann et al. (1943) und Claesson et al. (1948) gaben für ihre HCG-Präparate eine Aktivität von 6000-8000 IE/mg und Morris (1955) von 12000 IE/mg an.

b) Pregnant Mare's Serum Gonadotrophin (PMS)

Auch für PMS differieren die Angaben verschiedener Autoren. Li et al. (1940b) gaben den IP des PMS mit 2.4 an, Bourrillon und Got (1957) mit 1.8.

Der Zuckergehalt des PMS ist mit 16.9% (Rimington und Rowlands, 1941), 50% (Légault-Démare et al., 1958) und 45% (Bourrillon et al., 1959d) registriert worden.

Aus den Angaben über die biologische Aktivität von PMS ist ersichtlich, daß die untersuchten Substanzen einen unterschiedlichen Reinheitsgrad gehabt haben müssen. Rimington und Rowlands (1941) gaben für ihr PMS-Präparat eine biologische Aktivität von 12500 IE/mg an, Li et al. (1940b) eine solche von 30000 IE/mg, Bourrillon und Got (1957) nannten ca. 8000 IE/mg und Légault-Démare et al. (1958) 16400 IE/mg.

C. BIOLOGISCHE TESTSVERFAHREN FÜR FSH

In Abhängigkeit von dem als Endpunkt benutzten Parameter können die biologischen Testverfahren der Gonadotropine in primäre und sekundäre unterteilt werden. Nach Verabfolgung von FSH oder ICSH oder einer Kombination der beiden finden sich immer die ersten Wirkungen in den Gonaden der Versuchstiere. Die Primärwirkungen reichen von einer einfachen Hyperämie über Änderungen der chemischen und enzymatischen Grössen bis zu groben histologischen Befunden und einer allgemeinen Gewichtszunahme. Aus physiologischer Sicht ist die Produktion und Freisetzung grosser Mengen von Androgenen und Oestrogenen das bedeutende Resultat dieser Veränderungen. Im Gefolge der Steroidfreisetzung kommt es zu einer Reihe sekundärer Phänomene an den akzessorischen Geschlechtsorganen (Prostata, Samenblasen, Uterus, Vagina u.s.w.). Diese sekundären Veränderungen können ebenfalls als Endpunkt für den biologischen Test der Gonadotropine eine Verwendung finden, da mit gewissen Einschränkungen ein ausreichender Parallelismus zwischen der verabfolgten Mengen an Gonadotropin und dem Ausmass der Steroidfreisetzung aus den Gonaden besteht. Die primären Tests sind spezifischer als die sekundären, da die sekundären Veränderungen auch durch steroidale Verunreinigungen des verabfolgten Materials hervorgerufen werden können. Es können intakte und hypophysektomierte Tiere zum Test eingesetzt werden.

Versuche an hypophysektomierten Tieren sind von Vorteil, da die Möglichkeit einer Beeinflussung des Tests durch die endogenen Gonadotropine des Versuchstieres entfällt.

Unter dem Gesichtspunkt der Spezifität werden die Tierversuche in FSH-, ICSH- und TGA¹ Testsverfahren unterteilt. Die wichtigsten Testsverfahren für FSH sind in Tab. 1 auf Seite 13 zusammengestellt.

Für die eigene Untersuchungen werden der Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953) und der Test an hypophysekтомierten juvenilen Rattenmännchen nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) verwendet. Die beiden Verfahren beruhen auf der Tatsache, daß FSH die Wirkung von HCG auf die Ovarien bzw. Hoden synergistisch augmentiert. Unter HCG kommt es zu einer geringen Zunahme des Ovarien- bzw. Hodengewichts, die auch durch Erhöhung der Dosis nicht gesteigert werden kann. Durch FSH kommt es jedoch zu einer starken weiteren Zunahme des Keimdrüsengewichtes, was in diesem Bereich als spezifisch für eine FSH-Aktivität gilt. Hierzu kommt, daß ohne Verabfolgung von HCG die erwähnten Methoden wesentlich unempfindlicher und zum Nachweis kleiner Mengen von FSH ungeeignet sind.

¹ TGA: Totale gonadotrope Aktivität, d.h. die „Summe“ von FSH- und ICSH-Aktivitäten. Die Testsverfahren dafür sind der Mausuterustest, der Rattenovartest, die verschiedenen Froschteste u.a.

Tabelle 1 : Biologische Testverfahren für FSH

Versuchstiere	Ausgewertete Reaktion	Art der Reaktion	Literatur
infantile hypophysektomierte Ratten	Follikelwachstum in den Ovarien	primär	Evans et al. (1939)
infantile hypophysektomierte Ratten	Hodengewicht	primär	Greep et al. (1940)
hypophysektomierter Hahn	Hodengewicht	primär	Nalbandow et al. (1946)
infantile hypophysektomierte, mit HCG behandelte Ratten	Hodengewicht	primär	Paesi et al. (1951)
infantile intakte Ratten	Ovariengewicht	primär	Simpson et al. (1951)
geschlechtsreife Regenwurm	Spermiogenese	primär	Hasenbein (1951)
infantile intakte mit HCG behandelte Ratten	Ovariengewicht	primär	Steelman u. Pohley (1953)
infantile intakte mit HCG behandelte Mäuse	Ovariengewicht	primär	Brown (1955)
infantile hypophysektomierte, mit Diäthylstilböstrol behandelte Ratten	Ovariengewicht	primär	Payne et al. (1959)

D. STANDARDPRÄPARATE

Solange als Mass für eine Gonadotropinaktivität lediglich die Wirkung am Erfolgsorgan im Testtier galt, waren Ergebnisse verschiedener Untersucher nicht vergleichbar, da die Empfindlichkeit gegen Gonadotropine bei verschiedenen Tierstämmen sehr unterschiedlich ist und die örtlichen Testbedingungen ebenfalls variieren.

Durch die Einführung eines einheitlichen Standard- oder "Reference-" Präparates, das als Bezugssubstanz in jedem Test mitgeprüft wird, wäre die Möglichkeit eröffnet, an verschiedenen Orten gewonnene Resultate zu vergleichen. Die Aktivität wird dann nämlich in Äquivalenten zum Standard angegeben, wobei der Standard unter den örtlichen Gegebenheiten mitgetestet wurde.

In den letzten 10 Jahren wurden zur Überbrückung der "Interpretationslücken" zwischen den verschiedenen Zentren mehrere Standardpräparate verwendet. (Übersicht: Apostolakis und Voigt 1965). Die bekanntesten Standardpräparate stammen von National Institute of Health in Bethesda, Md., U.S.A. Für Gonadotropine werden NIH-FSH und NIH-LH genannt. Die Aktivität unbekannter Gonadotropinpräparate, die gegen diese Standards getestet werden, wird im Vergleich zur Wirkung des NIH-Standards auf Gewichtsbasis angegeben.

Im März 1963 auf dem Treffen des Gonadotropin-Club in Tel-Aviv wurde beschlossen Oergonal 23, ein Präparat aus postmenopausen Urin des Instituto Serono in Rom, als eine internationale Vergleichssubstanz anzunehmen, zum anderen einige der früheren Standardpräparate weiter als Standards zu verwenden. Im September 1964 auf dem Genfer Treffen der Expertenkomitee für biologische

Standardisation wurde zur Herstellung der „Second International Reference Preparation of Human Menopausal Gonadotrophins“, das 2. IRP-HMG, beschlossen. Die Komitee legte fest, daß in jeder Ampulle 40IE FSH- und 40IE ICSH-Aktivität enthalten sein soll, und daß eine IE des „FSH“ der Aktivität von 7 mg des 1.IRP und eine IE „ICSH“ 2 mg des 1.IRP entspricht. Die Aktivität pro mg Standard ist nicht zu erfahren, da das Hormon mit einer anderen Substanz (Lactose wird meist verwendet) in der Ampulle enthalten ist. Der 2.IRP-Standard wird vom Department of Biological Standardisation National Institute for Medical Research, London, an Interessierte abgegeben.

Die Daten der einzelnen als Standard anerkannte Präparate, die im Rahmen dieser Arbeit wichtig sind, sind folgende:

1. a) 261-151-X wurde von Armour Laboratories Biological Control Section, U.S.A. hergestellt und verteilt. Der Standard für FSH-Aktivität wird aus Schweinhypophysen gewonnen. Eine Einheit ist definitionsgemäss die biologische Aktivität 1.0 mg des Präparates.

b) NIH-FSH-S₁: Dieser Standard für FSH-Aktivitätsbestimmungen wird von der Endocrinology Study Section des National Institute of Health (Bethesda, Md., U.S.A.) dargestellt und verteilt. Er wird aus Schafhypophysen gewonnen. Seine relative FSH-Aktivität gegenüber dem Armourstandard 261-151-X im HCG-Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953) liegt bei 2.6 - 2.8. Die Verunreinigung mit ICSH im Ovarian Ascorbic Acid Depletion Test nach Parlow (1961) gegen LH 227-80 beträgt 0.006 mg/g, mit TSH 0.01 USP E/mg, mit ACTH 0.44 mE/mg und mit LTH 0.01 E/mg. Messbare Mengen an STH lassen sich nicht nachweisen (Offizielle NIH-Daten).

c) NIH-FSH-S₃ ist der zweite Nachfolger der NIH-FSH-S₁ und stammt aus gleicher Quelle. Seine relative Aktivität

für FSH gegenüber NIH-FSH-S₁⁺ im HCG-Augmentationstest nach Steelman und Pohley liegt bei 1.1 (0.95-1.27) E/mg. Die Verunreinigung mit ICSH im Ovarian Ascorbic Acid Depletion Test nach Parlow gegen NIH-LH-S₁⁺ beträgt 0.0044 E/mg, mit TSH 0.0014 (0.0010-0.0019) USP E/mg, mit STH weniger als 0.02 E/mg und LTH weniger als 0.02 E/mg (offizielle NIH-Daten).

2. a) HMG 24 (die erste „International Reference Preparation“ - 1.IRP; Bull. World Health Org. 1960) wurde in den Organon Laboratorien, New House, Schottland, aus dem Urin von Frauen nach der Menopause mit Hilfe der Kaolin-Aceton-Methode und anschliessender Reinigung an Tricalciumphosphat (Loraine und Brown, 1956) dargestellt. Wobei ein zusätzlicher Ammonium-Acetat-Aethanol-Schritt eingeschaltet wurde. Es wurde als Standard für die Messung von FSH- und ICSH-Aktivität verwendet. Definitionsgemäss entspricht 1.0 mg des Präparates einer HMG-Einheit.

b) Pergonal 23 wurde von dem Instituto Serrero, Rom, hergestellt. Es wird aus dem Urin von Frauen nach der Menopause durch Kombination einer Kaolinadsorption und Chromatographie an Permutit nach Donini et al. (1952, 1963) gewonnen. Die FSH-Aktivität einer jeden Ampulle ist ungefähr äquivalent 300 mg HMG 24 (1.IRP) im HCG-Augmentationstest nach Steelman und Pohley, die LH-Aktivität entspricht ungefähr 80 mg HMG 24 im ventralen Prostatalappen Test der hypophysektomierten Ratten nach Greep et al. (1942) und im Ovarian Ascorbic Acid Depletion Test nach Parlow (1961).

⁺ Definitionsgemäss ist die relative Aktivität der NIH-FSH-S₁ und NIH-LH-S₁ gleich 1 E/mg.

c) 2.IRP-HMG (1964), „Second International Reference Preparation for Human Menopausal Gonadotrophins“ wird von National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, N.W. 7 vergeben. Es wird aus Urin der Frauen in der Postmenopause gewonnen. Pro Ampulle sind 40 IE FSH- und 40 IE ICSH-Aktivität enthalten, eine Aktivität pro Gewichtsmenge Hormon ist nicht angegeben, das Verhältnis Hormon zu Lactose, das beim NIH-Standard angegeben wird, fehlt hier. Nach inoffizieller Mitteilung vom National Institute for Medical Research werden die FSH-Aktivität pro Ampulle mit ca. 1.5 mg NIH-FSH-S₁ und ICSH-Aktivität mit ca. 0.026 mg NIH-LH-S₁ angegeben.

3. Der internationale Standard für HCG (League of Nations 1938a) ist als Standard für ICSH-Aktivität verwendet worden. Definitionsgemäss entspricht 1 mg dieses Standards 10IE HCG. Nach Schmidt-Elmendorff et al. (1962b) beträgt die ICSH-Aktivität des internationalen HCG-Standards 1.7mal die des HMG 24 und 0.43mal die des Pergonal 23.

4. Der internationale Standard für PMS (League of Nations 1938b). Definitionsgemäss entspricht 1.0 mg des Standards 4.0 IE PMS. Nach Schmidt-Elmendorff et al. (1962b) beträgt die ICSH-Aktivität des internationalen PMS-Standard 0.62mal die des HMG 24, eine FSH-Aktivität 1.3mal die des HMG 24.

E. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

I. PROBLEMATIK

Zur Zeit werden verschiedene Gonadotropinpräparate zur Ovarialstimulierung und Ovulationsauslösung beim Menschen mit unterschiedlichem Erfolg verwendet. Es handelt sich um PMS, HCG, HMG und HHG.

PMS und HCG sowie auch die ersten HMG-Präparate sind nicht hinsichtlich ihre FSH- und LH- (ICSH-) Aktivität definiert. Beim HMG wurde zunächst nach HMG-Einheiten dosiert, die im Mausuterustest die Gesamtaktivität angeben. Es hat sich dabei gezeigt, daß die Wirkungen sehr verschieden waren (Diczfalusy et al., 1964) und für die Wirkung am Ovarium beim Menschen nicht die Gesamtaktivität ausschlaggebend ist, sondern die FSH-Aktivität, wobei auch der FSH-LH Relation eine Bedeutung zukommen soll (Bettendorf 1964).

Über die FSH-Aktivität von PMS liegen widersprechende Angaben vor. Während PMS allgemein in der Therapie als FSH-Ersatz angesehen wird, fanden Dürner, Hohlweg und andere, daß PMS in seiner Aktivität dem HCG weit näher steht als tierischem FSH. Die FSH-Aktivität im HCG soll, wenn überhaupt, nur in Spuren vorhanden sein (Blobel 1966). Es erschien aus diesem Grunde sinnvoll, mit ein und demselben FSH spezifischen Test unter gleichen Bedingungen verschiedene Gonadotropine zu prüfen.

Ausserdem sollten Aufarbeitungen aus menschlichen Hypophysen auf ihre FSH-Aktivität untersucht werden, insbesondere der Einfluss der Dialyse gegen Wasser, Titriplex und GSH (Gutation) auf den FSH-Gehalt.

II. METHODIK UND TIERMATERIAL

Zur Untersuchung der FSH-Aktivität verschiedener Gonadotropine wurden zwei Methoden angewandt: 1. der Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953) an intakten, juvenilen Rattenweibchen; 2. der Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) an hypophysektomierten, hemiorchidektomierten, juvenilen Rattenmännchen.

1. Der Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953)

a) Prinzip

Durch HCG allein als LH aktivem Hormon kommt es zu einer Stimulierung der Ovarien bis zu einem gewissen Grade, was durch Wägung der Ovarien feststellbar ist. Erhöhung der HCG-Dosis führt zu keinem weiteren Gewichtsanstieg der Ovarien. Wird dagegen zum HCG gleichzeitig FSH aktives Hormon verabfolgt, so kommt es auf Grund der synergistischen Wirkung von LH (HCG) und FSH zu einem Gewichtsanstieg der Ovarien, der über das Mass des Anstiegs bei alleiniger LH- (HCG-) Verabfolgung hinausgeht.

Die über den Gewichtsanstieg unter LH (HCG) hinausgehende Gewichtszunahme der Ovarien gilt als spezifisch für die FSH-Wirkung.

b) Testanordnung

Als Testtiere wurden intakte, juvenile, weibliche 20-22

Tage alte Sprague-Dawley Ratten von 32-38 g Körpergewicht verwendet. Am 1., 2. und 3. Versuchstag wurden täglich dreimal je 0.2 ml Hormonlösung subcutan injiziert, am 4. Tag wurden die Tiere mit Aether getötet. Die Ovarien wurden aus dem Bindegewebe freipräpariert und frisch auf der Torsion-Waage, mit einer Genauigkeit von 0.1 mg, gewogen. Pro Dosis wurden 8 Tiere verwendet. Eine Gruppe von Tieren erhielt nur physiologische NaCl-Lösung injiziert und eine weitere Gruppe 20 IE HCG pro Tier als Kontrolle. Als Wirkungskriterium galt die Gewichtszunahme der Ovarien.

c) Herstellung der Testlösung

Die Hormonsubstanzen wurden in physiologischer NaCl-Lösung gelöst und verdünnt, sodaß jeweils in 1.8 ml die zu testende Dosis des zu prüfenden Hormons zusammen mit konstant 20 IE HCG enthalten waren. Diese Lösung wurde wie beschrieben in 9 Portionen zu 0.2 ml auf 3 Tage verteilt pro Tier injiziert.

d) Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte immer im Bezug zu einem Standardpräparat oder einer bekannten Bezugssubstanz, die in jedem Test mitlief. Die Berechnungen der Aktivität und der Gültigkeitskriterien sind in einem Beispiel auf Seite 23 beschrieben.

2. Der Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) an hypophysektomierten, hemiorchidektomierten, juvenilen Rattenmännchen

a) Prinzip

Im Prinzip gleicht dieser Test dem Augmentationstest, jedoch werden, um jegliche Störung durch eine endogene Hormonproduktion (FSH) der Testtiere auszuschliessen hypophysektomierte Tiere verwendet. Als Mass der FSH-Wirkung wird dabei nicht das Ovargewicht, sondern die Zunahme des Hodengewichtes gewertet im Vergleich zum Gewicht des beim Testbeginn entfernten Hodens. Jedes Testtier liefert mit dem Gewicht des entfernten Hodens die Eigenkontrolle zur Berechnung der Hodengewichtszunahme des belassenen Hodens.

b) Testanordnung

Zu diesem Test wurden männliche, juvenile, 20-22 Tage alte Sprague-Dawley Ratten von 32-38 g Körpergewicht benutzt. Pro Dosis wurden 6 Tiere verwendet. Die Tiere wurden vor dem Test auf parapharyngealem Wege hypophysektomiert und nach mehrstündiger Pause hemiorchidektomiert. Bei diesen Operationen wurden die Tiere mit Narkose-Aether narkotisiert. 24 Stunden nach der Operation wurde mit den subcutanen Injektionen der Testlösungen begonnen. Die Tiere erhielten 6 Tage lang täglich einmal 20 IE HCG in 0.2 ml physiologischer NaCl-Lösung und 1/6 der zu testenden Hormondosis in ebenfalls 0.2 ml physiologischer NaCl-Lösung. Die Dosis der zu testenden Hormone wurde so über 6 Tage verteilt gegeben. Am 8. Tag wurden die Tiere einzeln gewogen („Mettler“-Waage, 0.1 mg Genauigkeit), anschliessend mit Aether getötet und untersucht. Sodann wurde der belassene linke Hoden herauspräpariert und gewogen und die Differenz zwischen linkem und dem als Kontrolle geltenden rechten Hodengewicht ermittelt. Zur Sicherung der Vollständigkeit der Hypophysektomie wurden bei jedem Tier der

Schädel geöffnet und Hirnbasis und Hypophysenbett unter dem Operationsmikroskop auf Hypophysenreste abgesucht. Ferner wurden Körpergewichtszunahme und Nebennierengewichte registriert.

In den Testtagen wurden die Tiere unter weitgehend konstanten Wärme- und Luftfeuchtigkeitsbedingungen gehalten. Als Nahrung wurden das „Standard Futter“ von Hope Farm, Holland und 5%ige Glucoselösung ad libitum gegeben.

c) Herstellung der Testlösung

Lösung 1 wurde so hergestellt, daß in 0.2 ml physiologischer NaCl-Lösung jeweils 20 IE HCG enthalten waren. Die auf FSH-Aktivität zu testenden Hormonsubstanzen wurden so gelöst und verdünnt, daß in 0.2 ml physiologischer NaCl-Lösung jeweils 1/6 der Gesamtdosis war.

d) Auswertung

Die Auswertung der Ergebnisse erfolgte in gleicher Weise wie beim Augmentationstest und ist als Beispiel auf Seite 23 beschrieben.

III. STATISTISCHE AUSWERTUNG

Die statistische Auswertung der biologischen Bestimmungen wurde nach dem Rechenverfahren von Borth, Diczfalusy und Heinrichs (1956) durchgeführt, das wiederum basiert auf den Verfahren von Bliss (1952), Finney (1952a,b), Fisher und Yates (1953), Gaddum (1933; 1953a,b) und Linder (1951, 1953) wurde aber wesentlich vereinfacht.

Für die statistische Auswertung biologischer Bestimmungen ist es eine Voraussetzung, daß die Einzelwerte innerhalb jeder Dosisgruppe normal, d.h. in Form der Gausschen Kurve, verteilt sind.

Fast immer ist die Kurve, die die Abhängigkeit der Wirkung von der verabfolgten Dosis wiedergibt, eine „S-förmige“ Kurve. Bei extrem kleinen Dosen, die noch keine deutliche Wirkung verursachen, verläuft sie nahezu waagerecht, da das Wirkungsmass nicht unter den Wert bei unbehandelten Kontrolltieren sinken kann. Auch bei extrem hohen Dosen bleibt die Wirkung gleich oder sinkt sogar wieder ab, da sie nicht über einen Maximalwert gesteigert werden kann. Dazwischen liegt der zur Auswertung allein geeignete Bereich des mehr oder weniger steilen Anstiegs der Wirkung in Abhängigkeit von der steigenden Dosis, siehe Abb. 1.

Die statistische Auswertung besteht darin, aus dem beobachteten Wirkung die Dosiswirkungskurven abzuleiten und ihren Abstand zu bestimmen. Die Zuverlässigkeit des so erhaltenen Resultates lässt sich aus der Berechnung der Gültigkeitskriterien und der Präzisionsmasse ersehen.

Die Genauigkeit des Resultates wird in Form der Vertrauensgrenzen angegeben.

Die Bedeutung des statistischen Rechenverfahren besteht darin, daß es gelingt:

1. den Einfluss der unvermeidlichen Variabilität auf das Ergebnis zu berücksichtigen und zu verringern;
2. als Ergebnis die bestmögliche Schätzung des wahren Wertes zu erhalten;
3. die Vertrauensgrenzen anzugeben, innerhalb derer der wahre Wert mit grosser Wahrscheinlichkeit vermutet wird;
4. zu prüfen, ob die Bestimmung gewisse Gültigkeitskriterien erfüllt.

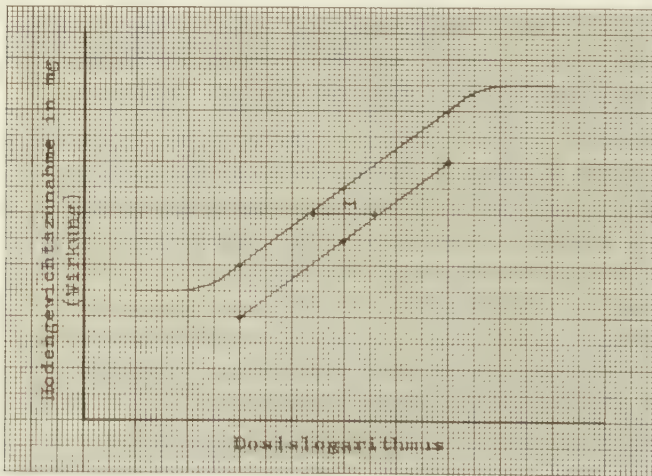


Abb. 1: Schematische Darstellung „S-förmiger“ und paralleler Dosiswirkungskurven

Als Auswertungsbeispiel von sechsmal sechs Ratten nach dem Sechspunkt-System (drei Standard- und drei Testdosen) wurden die Standardpräparate NIH-FSH-S₃¹⁾ und 2.IRP²⁾ genommen.

-
- 1): NIH-FSH-S₃ wurde als Standardpräparat vom National Institute of Health, Bethesda, Md., U.S.A. zu Verfügung gestellt.
 - 2): 2.IRP, Second International Reference Preparation for Human Menopausal Gonadotrophins, wurde ebenfalls als Standard von National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, N.W. 7 zur Verfügung gestellt.

Das 2.IRP-Präparat wurde als unbekannte Substanz gegen das Standardpräparat NIH-FSH-S₃ in seiner FSH-Aktivität verglichen, siehe Tabelle 2.

Tabelle 2: Beispiel eines 3 + 3 Testes (Sechspunkt-System) mit 2.IRP als Unbekanntes- und NIH-FSH-S₃ als Standard-Präparat

	Standardpräparat (NIH-FSH-S ₃)			Unbekanntes Präparat (2.IRP)		
Dosisgruppen	k = 3			k' = 3		
Dosis	25.0 γ	100.0 γ	400.0 γ	0.625 IE	2.5 IE	10.0 IE
Anzahl d. Tiere	6	6	6	6	6	6
Wirkung (Hodengewichtszunahme in mg)	36.6	77.2	128.9	23.9	73.1	119.1
	37.7	87.4	118.7	40.6	69.8	118.2
	40.5	78.4	132.8	41.2	67.8	112.3
	41.7	83.1	122.7	42.6	76.8	113.0
	36.5	95.4	131.9	22.7	81.5	121.6
	41.1	73.1	113.5	23.9	73.6	106.1
Summe	234.1	494.6	748.5	194.9	442.6	690.3
Durchschnitt	39.016 = S ₁	82.433 = S ₂	124.750 = S ₃	32.483 = U ₁	73.766 = U ₂	115.050 = U ₃
Spannweite	5.2	22.3	19.3	19.9	13.7	15.5

Um die Auswertung zu vereinfachen wurden symmetrische Versuchsanordnungen gewählt, d.h. a) die Zahl der Testtiere ist in allen Dosisgruppen gleich, n = konstant; b) die Dosen beider Präparate steigen in gleicher geometrischer Progression an. Der Dosisabstand ist konstant.

Der Vergleich zweier Wirkungsgeraden kann, streng genommen, nur in dem Wirkungsbereich erfolgen, in welchem die Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis bekannt ist. Aus diesem Grund ist die Dosis des unbekannten Präparates so zu wählen, daß die verabfolgten Wirkstoffmengen denen des Standards

möglichst nahekomen. Die Vervielfachung aller verabfolgten Dosen mit einem bestimmten Faktor entspricht einem konstanten Abstand auf der logarithmischen Dosisskala; die Wirkungsgeraden von Präparaten, die sich nur durch den Gehalt an aktiver Substanz unterscheiden, sind einander parallel, und ihr horizontaler Abstand (M) entspricht dem logarithmierten Aktivitätsquotienten, siehe Abb. 1 und 2.

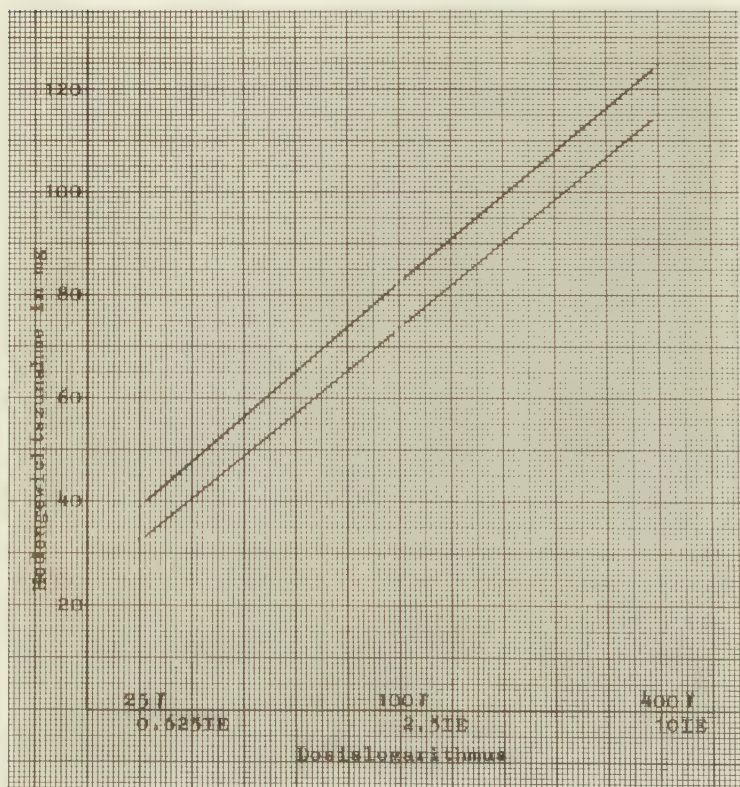


Abb. 2: Dosiswirkungskurven von NIH-FSH-S₃ (—) und 2.IRP₃ (—)

(A) Vergleiche

Regression: ist die Abhängigkeit der Wirkung von der Dosis, ist ein Viertel der Summe zweier Differenzen zwischen den Durchschnittswirkungen der grössten und kleinsten Dosis des unbekannten und der des Standardpräparats:

$$E = 1/4(U_3 - U_1) + (S_3 - S_1) = 42.0750$$

Aktivitätsunterschied: ist der Unterschied an Wirkstoffgehalt eines Präparats, ist ein Drittel der Differenz zwischen der Summe der Durchschnittswirkungen der drei Dosen des unbekannten und der des Standardpräparats:

$$F = 1/3(U_1 + U_2 + U_3) + (S_1 - S_2 - S_3) = - 8.3000$$

Parallelität: ist die gleiche Neigung der Wirkungsgeraden des unbekannten und der des Standardpräparats. Der Wert aus der Hälfte der Differenz aus den Differenzen zwischen den Durchschnittswirkungen der grössten und der kleinsten Dosis der beiden Präparate gibt die Abweichung von der Parallelität an:

$$G = 1/2(U_3 - U_1) - (S_3 - S_1) = - 1.5833$$

Linearität: ist ein Ausdruck einer Dosis-Wirkungs-Abhängigkeit. Aus den folgenden Formeln ergeben sich Werte der Abweichungen von der Linearität:

$$H' = U_1 + U_3 - 2U_2 = + 0.0001$$

$$H = S_1 + S_3 - 2S_2 = - 1.1000$$

$$H' + H = - 1.0999$$

$$H' - H = + 1.1001$$

Diese Vergleiche sind statistisch nicht gesichert !

Wirkungsgerade = Dosiswirkungskurve

(B) Bestimmungsergebnis

Konstanter Quotient benachbarter Dosen:

$$J = 4$$

Konstanter Abstand der Dosislogarithmen:

$$I = \log J = 0.6020$$

Gemeinsamer Regressionskoeffizient:

$$b = E/I = 69.8920$$

Abstand der parallelen Wirkungsgeraden:

$$M = F/b = - 0.1187$$

Aktivitätsquotient des Unbekanntenpräparats:

$$R = \text{antilog } M = 0.7608$$

Vermutete Aktivität: Dosismenge des Unbekannten- durch die
des Standardpräparats,

$$0.0250\text{IE } 2.\text{IRP entspricht } 1 \text{ NIH-FSH-S}_3$$

Ermittelte oder relative Aktivität: Aktivitätsquotient des
unbekannten Präparats
mal Dosismenge des
Standards durch Dosis-
menge des Unbekannten,

$$= (R \times 1) / 0.0250\text{IE} = 30.4320,$$

$$\text{d.h. } 1\text{IE } 2.\text{IRP entspricht } 30.4320 \text{ NIH-FSH-S}_3$$

(C) Streuungen

Die Streuungen aller Gruppen werden kombiniert und dienen zur Berechnung der Gültigkeitskriterien, Präzisionsmasse und Vertrauensgrenzen.

Hier wurde die gleiche Anzahl der Einzelwerte oder der Testiere verwendet, $n = 6$, Faktor $f_n = 0.395$ (nach Finney 1952a).

Anzahl der Dosisgruppen des unbekannten Präparats:

$$k' = 3$$

Anzahl der Dosisgruppen des Standardpräparats:

$$k = 3$$

Durchschnittliche Spannweite: Summe der einzelnen Spannweiten durch Anzahl der Gruppen beider Präparate

$$= 15.9833$$

Standardabweichung: Durchschnittliche Spannweite mal f_n

$$s = 6.3134$$

Reststreuung:

$$s^2 = 39.8590$$

Freiheitsgrad: Summe der Dosisgruppen beider Präparate ($k' + k = S$) mal Anzahl der Tiere pro Dosisgruppe minus 1 ($n - 1$)

$$= S (n - 1) = 30$$

Streuung der Gruppendurchschnitte:

$$V = s^2 / \bar{n} = 6.6431 = 2.5774^2$$

Streuungen der Vergleiche:

$$V(E) = V/4 = 1.6607 = 1.2887^2$$

$$A = V(F) = 2V/3 = 4.4287 = 2.1044^2$$

$$V(G) = V = 6.6431 = 2.5774^2$$

$$V(H) = V(H') = 6V = 39.8586 = 6.3134^2$$

$$V(H' \pm H) = 12V = 79.7172 = 8.9284^2$$

Streuung des Regressionskoeffizienten:

$$V(b) = V(E) / I^2 = 4.5825$$

(D) Gültigkeitskriterien

Für Freiheitsgrad 30 ist der t-Tafelwert = 2.04 (nach Finney 1952a).

1. Regression:

$$g = t^2 V(b) / b^2 = 0.0039$$

Je steiler die Dosiswirkungskurve, desto präziser und empfindlicher ist die Bestimmungsmethode, da geringen Veränderungen der Dosis grosse Veränderungen der Wirkung entsprechen. Damit die Regression als gesichert gelten kann, muss also (g) kleiner als 1 sein.

2. Linearität:

$$t = H' / \sqrt{V(H')} = 0.0000$$

$$t = H / \sqrt{V(H)} = - 0.1742$$

$$t = H' + H / \sqrt{V(H' + H)} = - 0.1231$$

$$t = H' - H / \sqrt{V(H' - H)} = 0.1232$$

Die berechnete Dosiswirkungskurve kann nur dann als gültiger Ausdruck der Dosis-Wirkungs-Abhängigkeit angesehen werden, wenn die Streuung der für jede Dosis beobachteten durchschnittlichen Wirkungen um die Dosiswirkungskurve nicht grösser ist als die Streuung der Einzelwerte innerhalb der Gruppen. Die Prüfung besteht im statistischen Vergleich dieser beiden Streuungen. Ihr Quotient stellt einen t-Wert dar und sollte kleiner als der t-Tafelwert (2.04) sein.

3. Parallelität:

$$t = G / \sqrt{V(G)} = - 0.6143$$

Wenn die beiden Dosiswirkungskurven nicht parallel sind, ist ihr Abstand (M) nicht konstant, so verliert dieses Auswertungsverfahren seinen Sinn. In diesem Fall sind also die beiden Regressionskoeffizienten verschieden. Es bedeutet, daß beispielsweise die Verdoppelung der Dosis des Unbekanntenpräparats nicht die gleiche Wirkungsänder-

ung hervorruft wie die Verdoppelung der Dosis des Standards. Die Prüfung besteht wiederum im statistischen Vergleich dieser beiden Streuungen. Ihr Quotient, der berechnete t-Wert, soll kleiner als der t-Tafelwert (2.04) sein.

4. Gleiche Wirkungen:

$$t = F/\sqrt{A} = - 3.9441$$

Hier sollte der berechnete t-Wert auch kleiner als der t-Tafelwert sein. In diesem Fall ist der Wert etwas grösser. Durch Änderung der verglichenen Dosierungen könnte jedoch auch diese Forderung erfüllt werden. Nach Borth et al. (1956) darf man über eine Abweichung der gleichen Wirkung auch wenn sie statistisch gesichert sein sollte, hinwegsehen, wenn die anderen Gültigkeitskriterien (Regression, Linearität, Parallelität) erfüllt sind.

Die Gültigkeitskriterien sind in diesem Versuch erfüllt, d.h. der Versuch ist gültig !

(E) Präzisionsmasse und Vertrauensgrenzen

Das Präzisionsmass wurde von Gaddum (1933) eingeführt. Dieser Quotient hat die Bedeutung einer Standardabweichung des Logarithmus der Einzeldosis. Er ist unabhängig von Versuchsanordnung und von der Einheit und macht es daher möglich, die mit verschiedenen Methoden mit einander zu vergleichen; vorausgesetzt ist, daß als Dosismetrometer die gewöhnlich Zehnerlogarithmen benutzt wurden.

Vor einiger Zeit hat Woolf (Zit. nach Gaddum 1953a) auf

Grund mathematisch-statistischer Überlegungen (Gaddum, 1953a; Diczfalussy, 1954) vorgeschlagen, anstatt λ , dessen reziproken Wert L als Präzisionsmass zu benutzen.

Die Methode der biologischen Bestimmungen kann als brauchbar betrachtet werden, wenn λ -Werte nicht grösser als 0.4 sind und L-Werte nicht unter 4 liegen.

$$\lambda = s/b = 0.0903$$

$$L = b/s = 11.0704$$

Bei biologischen Bestimmungen ist es üblich, die Vertrauensgrenzen für ein Irrtumsrisiko von 5% zu berechnen (Finney, 1952a). Die Bestimmung ist um so präziser, je näher die Vertrauensgrenzen beieinander liegen.

$$M_o, M_u = (M/(1-g)) \pm (t/b(1-g)) \sqrt{A(1-g) + M^2 \cdot V(b)}$$

$$M_o = -0.0572$$

$$M_u = -0.1810$$

$$R_o = \text{antilog } M_o = 0.8766$$

$$R_u = \text{antilog } M_u = 0.6592$$

$$0.8766/0.0250 = 35.0640$$

$$0.6592/0.0250 = 26.3680$$

Vertrauensgrenzen in NIH-FSH- S_3 : (26.3680 - 35.0640)

$$100 \cdot R_o/R = 115.2$$

$$100 \cdot R_u/R = 86.6$$

Vertrauensgrenzen in Prozent: (87 - 115 %)

Im manchen Versuchen konnte die statistische Auswertung nur mit dem Fünfpunktsystem, fünfmal sechs Ratten (drei Standard- und zwei Testdosen) berechnet werden. Es ist deshalb zweckmässig hier ein Beispiel dieses Rechenverfahrens in kurzer Fassung zu unterbreiten.

Tabelle 3 : Beispiel eines 3 + 2 Testes (Fünfpunktsystem)
mit NIH-FSH- S_3 als Standard- und NIH-FSH- S_1 als
Unbekanntespräparat

	Standardpräparat (NIH-FSH-S ₃)			Unbekanntes Präparat (NIH-FSH-S ₁)	
Dosisgruppen	k = 3			k' = 2	
Dosis	25.0 γ	100.0 γ	400.0 γ	100.0 γ	400.0 γ
Anzahl d. Tiere	6	6	6	6	6
Wirkung (Hodengewichts- zunahme in mg)	36.6	77.2	128.9	43.5	78.8
	37.7	87.4	118.7	41.9	78.4
	40.5	78.4	132.8	56.2	97.5
	41.7	83.1	122.7	45.3	94.1
	36.5	95.4	131.9	31.4	93.1
	41.1	73.1	113.5	55.2	85.1
Summe	234.1	494.6	748.5	273.5	527.0
Durchschnitt	39.016 = S ₁	82.433 = S ₂	124.750 = S ₃	45.583 = U ₁	87.833 = U ₂
Spannweite	5.2	22.3	19.3	24.8	19.1

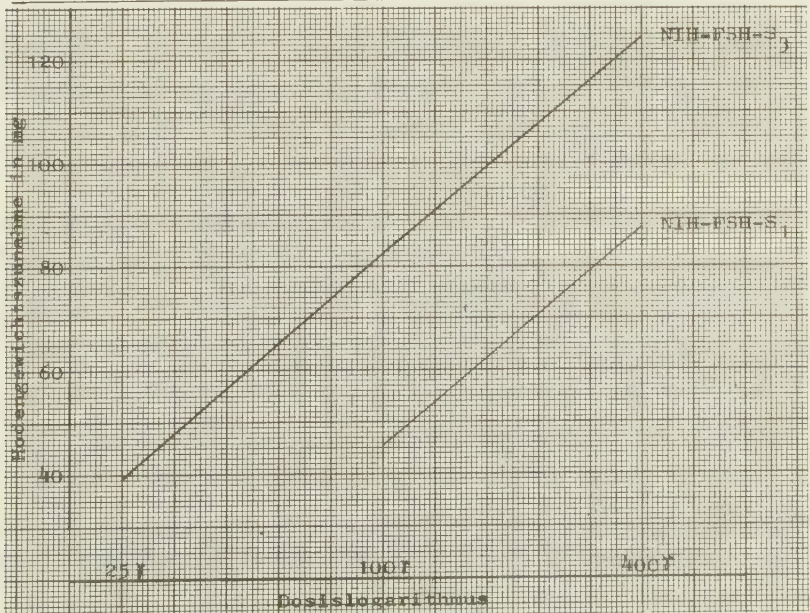


Abb. 3: Dosiswirkungskurven von NIH-FSH-S₃ und NIH-FSH-S₁

(A) Vergleiche

Regression:

$$E = 1/5(U_2 - U_1 + 2S_3 - 2S_1) = 42.7433$$

Aktivitätsunterschied:

$$F = 1/2(U_1 + U_2) - 1/3(S_1 + S_2 + S_3) = - 14.3583$$

Parallelität:

$$G = (U_2 - U_1) - 1/2(S_3 - S_1) = - 0.6167$$

Linearität:

$$H = S_1 + S_3 - 2S_2 = - 1.1000$$

(B) Resultat

Konstanter Quotient benachbarter Dosen:

$$J = 4$$

Konstanter Abstand der Dosislogarithmen:

$$I = \log J = 0.602$$

Gemeinsamer Regressionskoeffizient:

$$b = E/I = 71.0021$$

Abstand der parallelen Dosiswirkungskurven:

$$M = F/b = - 0.2022$$

Aktivitätsquotient des unbekannten Präparats:

$$R = \text{antilog } M = 0.6277$$

Mittlere Dosis des unbekannten Präparats:

$$= (\text{kleinere Dosis}) \times \sqrt{J} = 200 \text{ } \gamma$$

Mittlere Dosis des Standardpräparats:

$$= 100 \text{ } \gamma$$

Vermutete Aktivität: $200 \text{ } \gamma = 100 \text{ } \gamma$

d.h. $2 \text{ } \gamma$ NIH-FSH- S_1 entspricht $1 \text{ } \gamma$ NIH-FSH- S_3

Ermittelte oder relative Aktivität:

$$= R \times 100 / 200 = 0.3138$$

(C) Streuungen

Gleiche Anzahl der Tiere $n = 6$ in allen Gruppen, also $\bar{n} = 6$
und Faktor $f_n = 0.395$

Anzahl der Gruppen beider Präparate:

$$S = k + k' = 3 + 2 = 5$$

Durchschnittliche Spannweite: Summe der einzelnen Spannweiten
durch Anzahl der Gruppen beider
Präparate

$$= 18.1400$$

Standardabweichung: Durchschnittliche Spannweite mal f_n

$$s = 18.1400 \times 0.395 = 7.1653$$

Reststreuung:

$$s^2 = 7.1653^2 = 51.3415$$

Freiheitsgrad:

$$= S(n-1) = 5(6-1) = 25$$

Streuung der Gruppendurchschnitte:

$$V = s^2/\bar{n} = 8.5569 = 2.9252^2$$

Streuungen der Vergleiche:

$$V(E) = 2V/5 = 3.4227 = 1.8500^2$$

$$A = V(F) = 5V/6 = 7.1307 = 2.6703^2$$

$$V(G) = 5V/2 = 21.3922 = 4.6251^2$$

$$V(H) = 6V = 51.3414 = 7.1653^2$$

Streuung des Regressionskoeffizienten:

$$V(b) = V(E)/I^2 = 9.4445$$

(D) Gültigkeitskriterien

Für Freiheitsgrad 25 ist der t-Tafelwert = 2.06

1. Regression:

$$g = t^2 \cdot V(b) / b^2 = 0.0079$$

2. Linearität:

$$t = H/V(H) = - 0.1535$$

3. Parallelität:

$$t = G/V(G) = - 0.1333$$

4. Gleiche Wirkung:

$$t = F/A = - 5.3770$$

(E) Präzisionsmasse und Vertrauensgrenzen

Präzisionsmasse:

$$\lambda = s/b = 0.1009$$

$$L = b/s = 9.9091$$

Vertrauensgrenzen:

$$M_o, M_u = (M/1-g) \pm (t/b(1-g)) \cdot /A(1-g)+M^2 \cdot V(b)$$

$$M_o = - 0.1241$$

$$M_u = - 0.2835$$

$$R_o = \text{antilog } M_o = 0.7515$$

$$R_u = \text{antilog } M_u = 0.5206$$

$$0.7515/2 = 0.3757$$

$$0.5206/2 = 0.2603$$

Vertrauensgrenzen in δ NIH-FSH-S₃: (0.2603 - 0.3757)

$$100 \cdot R_o/R = 119.7$$

$$100 \cdot R_u/R = 82.9$$

Vertrauensgrenzen in Prozent: (83 - 120%)

IV. ERGEBNISSE

1. Ergebnisse mit dem Test nach Steelman und Pohley (1953)

Zunächst wurden verschiedene Gonadotropine mit dem Test nach Steelman und Pohley gegen NIH-FSH-S₁ an 8 Tieren pro Dosis ausgetestet. Dieser Test wurde anfangs für die FSH-Bestimmung im Hormonlabor der I. Universität-Frauenklinik in München benutzt, in der Arbeit sind sie bezüglich ihrer Brauchbarkeit beurteilt.

Es wurde festgestellt, daß 1. die Streuung der Ovargewichte recht gross ist, d.h. eine grosse Spannweite (die Differenz zwischen dem grössten und dem kleinsten Einzelwert einer Dosisgruppe) und 2. bei dem verwendeten Tierstamm die Ansprechbarkeit der juvenilen Ovarien offenbar gering ist, da meist nur flache Anstiege der Dosiswirkungskurven erhalten wurden, siehe Tabellen und Abbildungen 1a,b,c,d und e auf Seiten 39, 40, 41, 42 und 43. Daraus ergeben sich niedrige Werte des Regressionskoeffizienten (b) im Verhältnis zu den verhältnismässig grossen Werten der Standardabweichung (s), damit wird diese Testanordnung für die Fragestellung zu unpräzise, was an den mit oft grösser als 0,25 berechneten λ -Werten zu erkennen ist, am augenfälligsten jedoch aus in Prozent angegebenen weiten Vertrauensgrenzen, z.B. 63 - 342 % oder 4 - 214 %, siehe Tabelle 4 auf Seite 44, ersichtlich ist. Auf die Interpretation der Ergebnisse wird wegen zu geringer Genauigkeit verzichtet.

Dieser Test ist aus den dargelegten Gründen für die weiteren Untersuchungen durch die Testanordnung nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) ersetzt worden, wobei hypophysektomierte Tiere verwendet werden und als Mass der FSH-Wirkung nicht die Gewichtszunahme der Ovarien, sondern der Hoden gilt.

Es wurden pro Dosis 9 infantile Rattenmännchen des Sprague-Dawley Stammes angesetzt, da erfahrungsgemäss ca. 15% der Testtiere den Test nicht überlebten und ca. 10% bei der Kontrolle Hypophysenreste gefunden werden. Diese Tiere wurden für die Auswertung des Ergebnisses nicht mit herangezogen. Zur Auswertung kamen pro Dosis in jedem Fall 6 Tiere.

Tabelle 1a: Ergebnisse der 1. Testgruppe

Substanz	Tier- anzahl pro Dosis- gruppe	Wirkungsdurchschnitte		
		Dosis(Spann- weite)	Dosis(Spann- weite)	Dosis(Spann- weite)
NIH-FSH-S ₁	8	50 ♂ 45.57 (46.3)	100 ♂ 54.01 (54.8)	200 ♂ 88.16 (93.5)
HHG M9	8	12.5 ♂ 41.11 (44.0)	25 ♂ 47.35 (55.2)	50 ♂ 64.60 (24.0)
SHG 9	8	100 ♂ 42.18 (36.6)	200 ♂ 39.20 (26.5)	400 ♂ 42.25 (30.6)
SH ₈₂₀	8	100 ♂ 58.17 (30.2)	200 ♂ 79.17 (102.1)	400 ♂ 103.37 (55.7)

Kontrolle: NaCl-Lösung = 17.00 (6.0)

HCG = 47.51 (30.0)

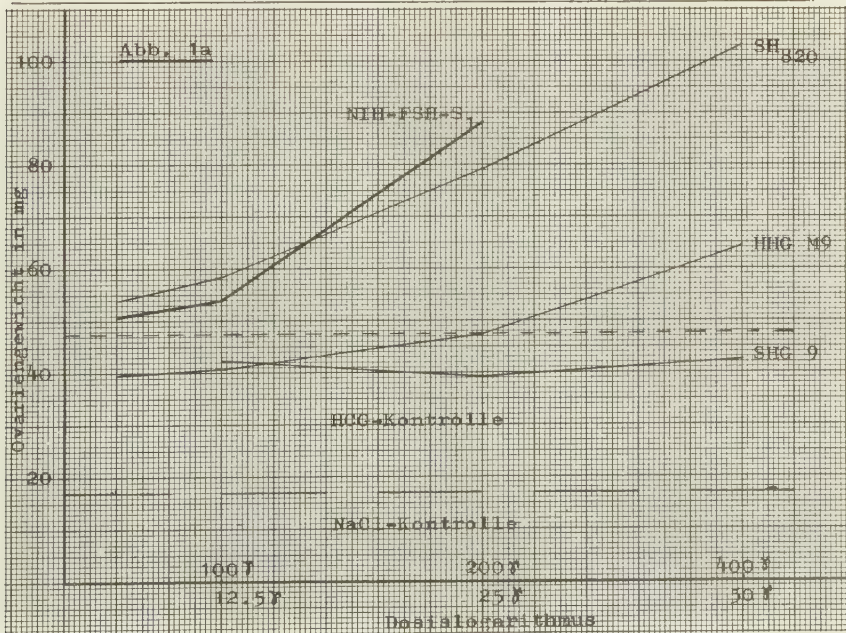


Tabelle 1b: Ergebnisse der 2. Testgruppe

Substanz	Tier- anzahl pro Dosis- gruppe	Wirkungsdurchschnitte		
		Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)
NIH-FSH-S ₁	8	50 Y 39.03 (24.9)	100 Y 48.21 (59.1)	200 Y 57.46 (76.6)
HHG M8	8	12.5 Y 28.70 (31.3)	25 Y 30.13 (21.7)	50 Y 37.50 (16.0)
Kontrolle: NaCl-Lösung		= 17.17 (9.3)		
HCG		= 25.40 (10.0)		

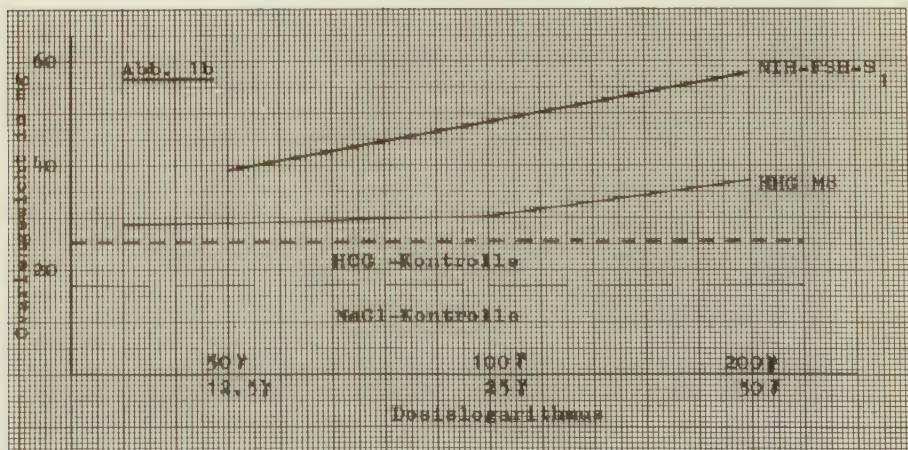


Tabelle 1c: Ergebnisse der 3. Testgruppe

Substanz	Tier- anzahl pro Dosis- gruppe	Wirkungsdurchschnitte		
		Dosis(Spann- weite)	Dosis(Spann- weite)	Dosis(Spann- weite)
NIH-FSH-S ₁	8	50Y 49.95 (55.1)	100Y 49.93 (46.0)	200Y 54.08 (50.6)
HHG M10	8		100Y 50.48 (39.1)	200Y 65.30 (51.4)
Predalon S	8	10IE 33.55 (36.2)	20IE 77.46 (39.9)	40IE 68.16 (49.5)
Kontrolle: NaCl-Lösung = 14.33 (3.1)				
HCG = 35.43 (34.0)				

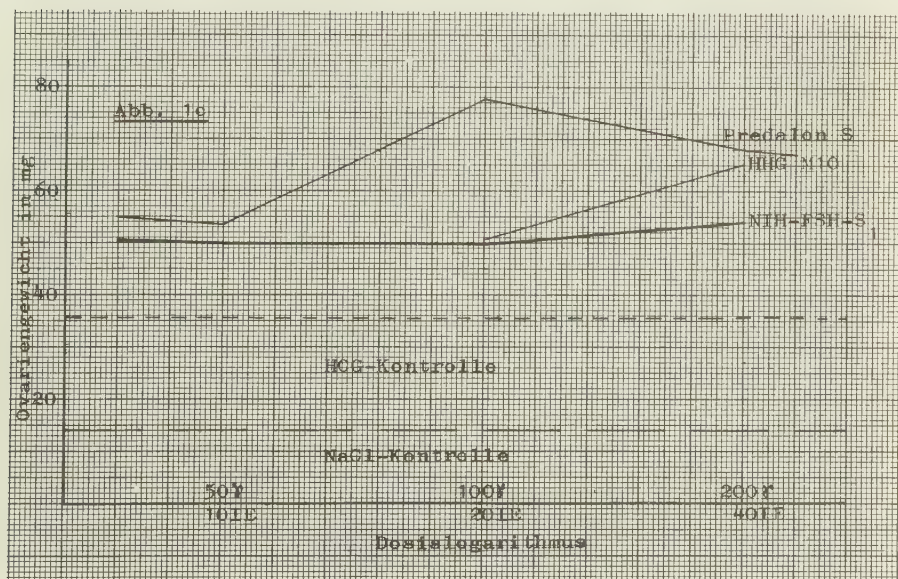


Tabelle 1d: Ergebnisse der 4. Testgruppe

Substanz	Tier- anzahl pro Dosis- gruppe	Wirkungsdurchschnitte		
		Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)
NIH-FSH-S ₁	8	50Y 32.48 (49.4)	100Y 63.52 (52.1)	200Y 55.11 (29.4)
HHG M7	8	50Y 75.88 (46.7)	100Y 74.23 (51.1)	
Anteron	8	10IE 55.26 (45.2)	20IE 67.32 (87.2)	40IE 59.50 (53.2)
Kontrolle:		NaCl-Lösung = 14.53 (9.0)		
		HCG = 46.71 (23.6)		

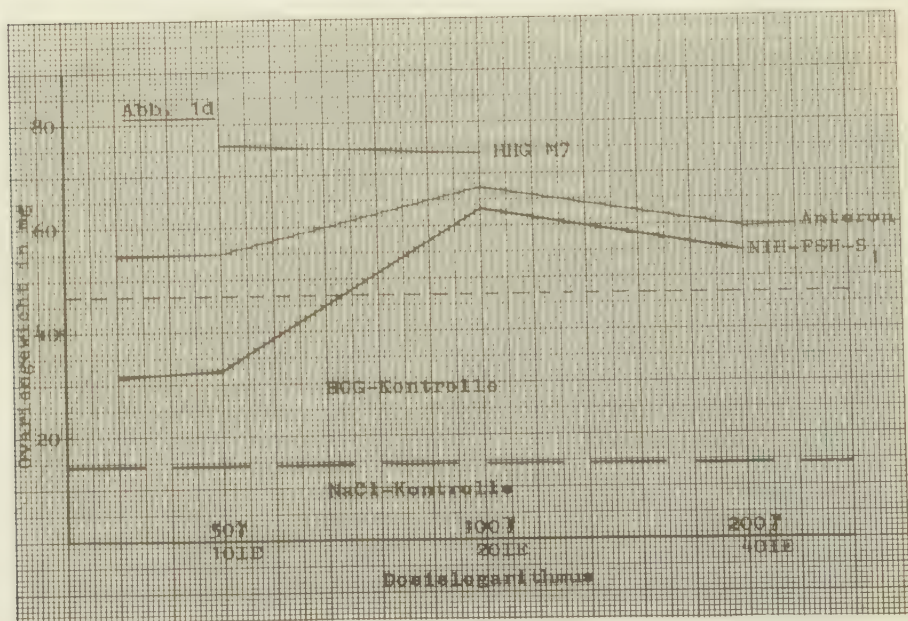
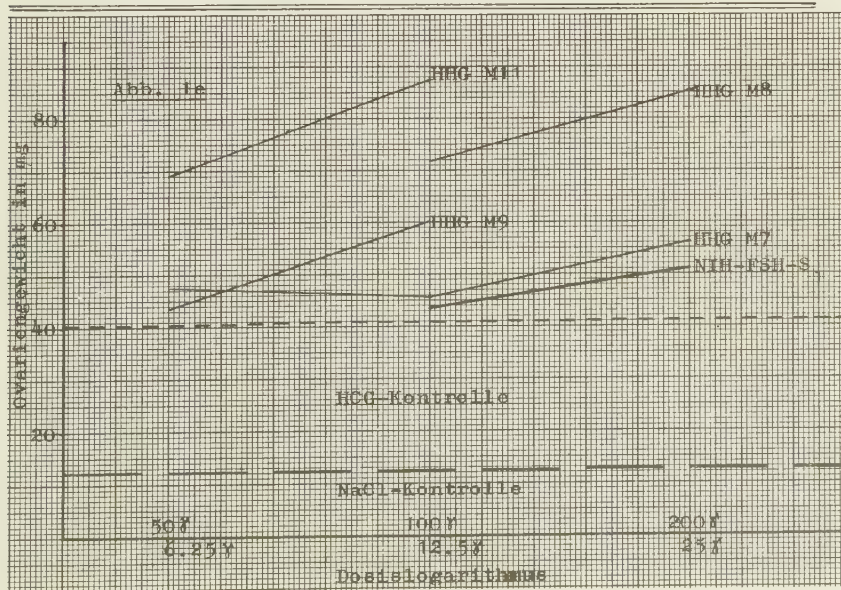


Tabelle 1e: Ergebnisse der 5. Testgruppe

Substanz	Tier- anzahl pro Dosis- gruppe	Wirkungsdurchschnitte		
		Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)	Dosis (Spann- weite)
NIH-FSH-S ₁	8		100 ♂ 43.31 (20.4)	200 ♂ 50.95 (19.2)
HHG M7	8	6.25 ♂ 47.38 (28.0)	12.5 ♂ 45.46 (26.3)	25 ♂ 56.26 (49.8)
HHG M8	8		100 ♂ 71.95 (79.1)	200 ♂ 85.26 (70.7)
HHG M9	8	50 ♂ 44.30 (35.9)	100 ♂ 59.98 (49.1)	
HHG M11	8	50 ♂ 68.97 (59.4)	100 ♂ 87.76 (108.1)	

Kontrolle: NaCl-Lösung = 12.20 (4.2)

HCG = 40.82 (48.0)



Wellenlänge	Gleiche Wirkung	Präzisionsmasse		relative Aktivität	Verhältnisse	
		λ	L		in Gramm Aktivsubstanz	in Prozent
5238	2.1257	0.2771	3.6085	0.8073	0.808 = 2.700	2.700 = 11.0
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
5371	-3.2022	0.4735	2.1115	0.9140	0.907 = 1.735	1.735 = 11.0
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
-	-	-	-	-	-	-
8676	4.8613	0.1139	2.4158	10.2960	-	-
0199	1.2960	0.2822	1.5429	8.0000	1.2960 = 7.310	7.310 = 271.4
4825	5.3566	0.4775	2.0919	8.0000	-	-
5401	1.0391	0.3114	3.0170	10.0000	5.3566 = 52.208	52.208 = 65.0

2. Ergebnisse mit dem Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951)

Entsprechend der Testvorschrift, siehe Seite 20, vor Applikation der Testsubstanzen wird der rechte Hoden exterpier und gewogen. Dieses Hodengewicht gilt als Anfangsgewicht und wird mit dem Gewicht des linken Hodens, der im Laufe des Testes stimuliert wurde, verglichen. Die Differenz wird als Gewichtszunahme des rechten Hodens angesehen. Voraussetzung für dieses Vorgehen ist, daß die Hodengewichte beim Testbeginn annähernd gleich sind. Um das zu überprüfen, wurden bei Ratten, die bei der Narkose eingingen beide Hoden in unbehandeltem Zustand gewogen.

Die Ergebnisse sind graphisch in Abb. 4 auf Seite 46 dargestellt. Die Differenz der Hodengewichte betrug maximal 10.2 mg, minimal -5.8 mg, im Mittel 3.7 mg, wobei der linke Hoden im Mittel um 3.7 mg schwerer war. Bei einem mittleren Hodengewicht von 116.2 mg für die rechten und 119.9 mg für die linken Hoden, macht das ca. 3% aus. Diese Differenz kann wegen Geringfügigkeit vernachlässigt werden, da die Hodengewichtszunahme ca. 25-130 mg beträgt.

Der Einfluss einer HCG-Applikation auf das Hodengewicht ist aus Abb. 5 auf Seite 47 zu ersehen.

Während es nach Hypophysektomie und Hemiorchidektomie zur Atrophie des belassenen Hodens kommt - Gewichtsverlust von durchschnittlich 32 mg bei mit physiologischer NaCl-Lösung behandelten Kontrollen - wird durch 20IE HCG pro Tag über 6 Tage, also insgesamt 120IE HCG, die Hodenatrophie verhindert, es kommt zu Gewichtszunahmen um durchschnittlich 10 mg. Um zu prüfen ob bei höheren Dosierungen von HCG ein evtl. dem HCG in Spuren anhaftender FSH-Effekt auftritt, wurden zu der Gesamtdosis von 120IE bis zu 640IE HCG dazu gegeben. Dabei wurden die Präparate Predalon und Primogonyl (160IE) verwendet.

Die Gewichte schwankten in den Gruppen zwischen durchschnittlich 9.2 mg Gewichtsabnahme bis 11.8 mg Gewichtszunahme. Bei der Testanordnung mit 6 Tieren pro Dosis sind diese Unterschiede nicht signifikant (t-Test).

Aus diesem Befunde geht hervor, daß 1. bis zu 640IE HCG keine mit dem Test messbare FSH-Aktivität enthalten und 2. 120IE HCG zu Aufrechterhaltung des Hodengewichts nach Hypophysektomie voll ausreichen.

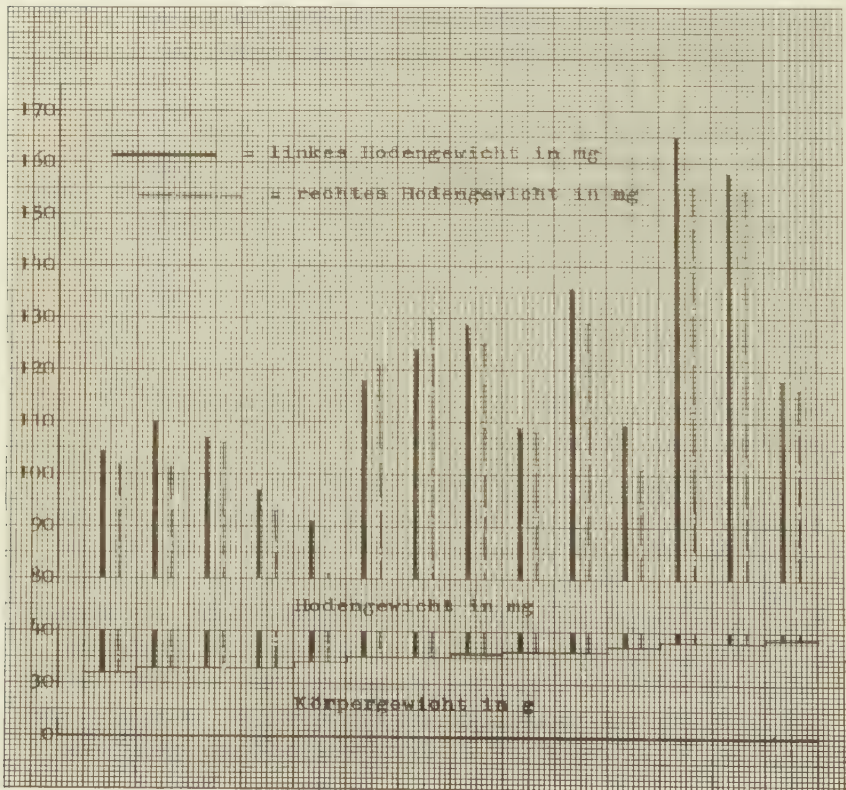


Abb. 4: Linkes und rechtes Hodengewicht

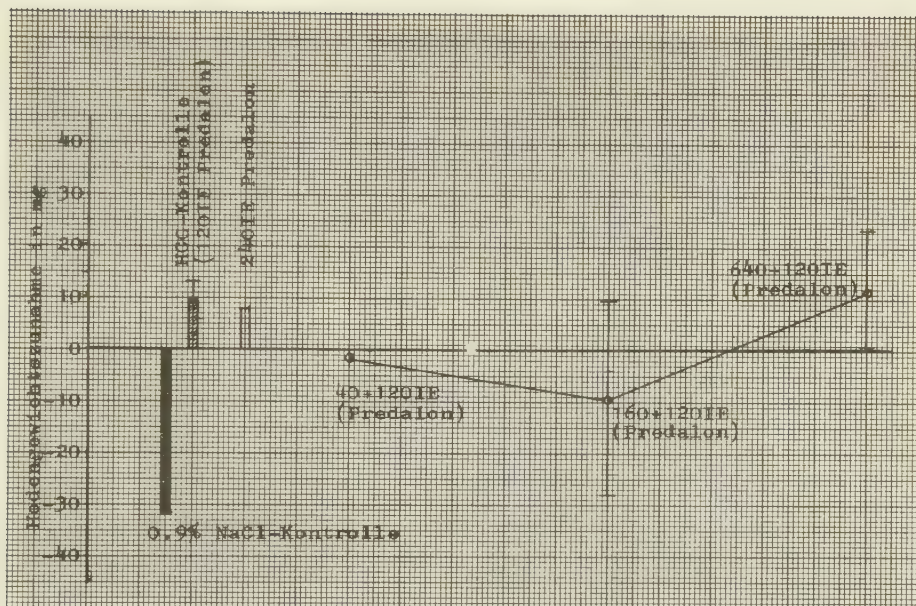


Abb. 5a: Physiologische NaCl-Lösung und HCG(Predalyn) Kontrolle, und HCG-(Predalyn-) Einfluss auf den Hoden.

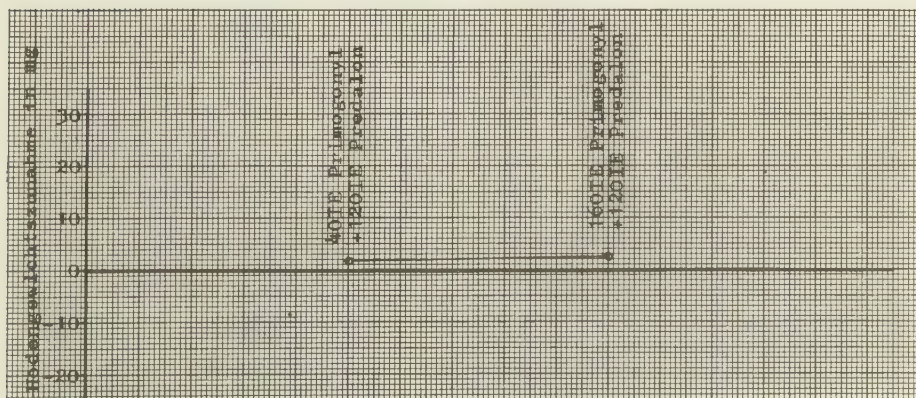


Abb. 5b: HCG-(Primogonyl-) Einfluss auf den Hoden

Tabelle 4: Kontroll - Testergebnisse

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
6x0.4ml	33.0	28.0	95.6	58.6	-37.0	3.8	sauber
0.9%NaCl	34.5	33.0	80.7	64.5	-16.2	2.3	"
Lösung	34.5	35.0	98.6	78.8	-19.8	3.7	"
	36.0	35.5	98.5	78.0	-20.5	3.3	"
	37.0	38.5	113.2	69.9	-43.3	3.5	"
	38.0	37.7	122.9	68.7	-54.2	3.0	"
Summe					-191.0		
Durchschnitt					-31.8333		
Spannweite					38.0		
6x0.2ml	32.5	33.5	90.8	107.0	16.2	3.9	sauber
0.9%NaCl	34.0	34.0	90.3	100.0	9.7	3.8	"
Lösung	34.5	35.7	87.0	96.4	9.4	3.4	"
+	36.0	39.0	110.9	118.4	7.5	4.0	"
120IE	36.0	40.5	108.5	114.3	5.8	3.9	"
HCG	38.0	41.2	102.9	112.3	9.4	3.7	"
Summe					58.0		
Durchschnitt					9.6666		
Spannweite					10.4		
240IE	33.0	38.5	96.3	109.8	13.5	4.2	sauber
HCG	34.0	40.2	111.9	116.6	4.7	3.1	"
	34.5	39.0	109.7	106.6	- 3.1	3.8	"
	36.0	40.5	121.0	137.9	16.9	3.1	"
	37.0	41.5	101.9	103.5	1.6	3.6	"
	38.0	40.7	99.7	114.1	14.4	3.8	"
Summe					48.0		
Durchschnitt					8.0000		
Spannweite					20.0		

Tabelle 5a: Predalon - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Selle tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
40IE	31.0	38.5	89.5	95.6	6.1	4.5	sauber
+	32.0	39.7	93.7	99.9	6.2	3.6	"
120IE	34.5	40.0	116.6	119.2	2.6	4.4	"
	36.0	38.5	126.4	117.0	-9.4	4.2	"
	37.5	41.0	138.5	130.8	-7.7	4.5	"
	38.0	40.7	258.5	250.7	-7.8	3.6	"
Summe					-10.0		
Durchschnitt					-1.6666		
Spannweite					15.6		
160IE	32.0	40.7	102.6	92.1	-10.5	4.4	sauber
+	33.0	40.5	108.6	119.7	11.1	4.4	"
120IE	33.5	41.7	113.3	91.3	-22.0	4.8	"
	36.0	44.7	164.1	140.9	-23.2	3.9	"
	37.0	43.2	147.4	163.7	16.3	4.9	"
	38.5	45.0	154.6	127.3	-27.3	2.8	"
Summe					-55.6		
Durchschnitt					-9.2666		
Spannweite					43.6		
640IE	35.7	50.0	93.9	119.0	25.1	3.5	sauber
+	33.0	45.7	77.3	98.2	20.9	2.4	"
120IE	34.5	47.2	82.3	102.9	20.6	3.2	"
	37.0	46.0	119.6	123.8	4.2	3.3	"
Summe					70.8		
Durchschnitt					11.8000		
Spannweite					20.9		

Tabelle 5b: Primogonyl - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
40IE	36.0	46.0	96.3	112.7	16.4	3.8	sauber
+	36.0	31.0	114.4	85.8	-28.6	3.0	"
120IE	36.5	43.0	107.2	107.8	0.6	3.9	"
HCG	37.0	45.5	103.0	114.2	11.2	4.0	"
	37.0	50.0	104.0	108.4	4.4	3.3	"
	38.0	47.2	108.2	114.7	6.5	4.2	"
Summe					10.5		
Durchschnitt					1.7500		
Spannweite					39.8		
160IE	36.0	41.3	105.2	110.0	4.8	3.0	sauber
+	36.0	37.0	97.5	103.9	6.4	3.9	"
120IE	36.7	40.7	109.3	127.3	18.0	3.8	"
HCG	37.0	36.5	99.6	91.7	-7.9	3.6	"
	38.0	41.5	96.9	95.5	-1.4	3.6	"
	38.0	43.5	114.6	109.6	-5.0	4.3	"
Summe					14.9		
Durchschnitt					2.4833		
Spannweite					25.9		

a) Der NIH-FSH-S₃ Standard wurde in Dosen von 12.5 γ , 25 γ , 100 γ , 400 γ und 800 γ geprüft. Aus Abb. 6 ist ersichtlich, daß die Dosiswirkungskurve in halblogarithmischer Darstellung zwischen 25 und 400 gerade verläuft. Die Hodengewichtszunahme liegt dabei zwischen 39 und 125 mg im Mittel bei dem ersten Test oder zwischen 41 und 126 mg im Mittel bei dem zweiten Versuch.

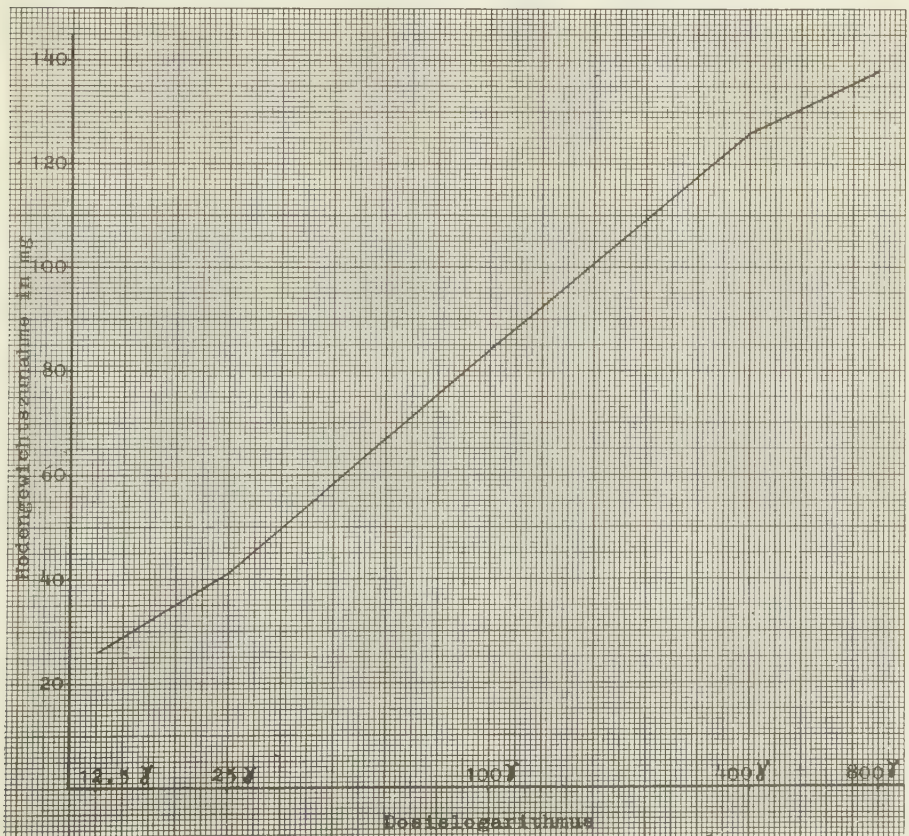


Abb. 6: Dosiswirkungskurve des NIH-FSH-S₃ Standards

Tabelle 6. 12.5 γ und 800 γ NIH-FSH-S₃ - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse:	
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.	
12.5 γ	34.0	41.0	97.1	124.6	27.5	3.4	sauber	
+	34.0	43.5	98.7	134.4	35.7	3.6	"	—
120IE	35.5	45.0	105.6	140.0	34.4	3.3	"	
HCG	36.5	46.0	122.8	137.2	14.4	3.2	"	
	37.5	43.0	134.4	158.0	23.6	3.0	"	
	38.0	43.0	100.1	120.1	20.0	3.5	"	
Summe					155.6			
Durchschnitt					25.9333			
Spannweite					21.3			
800 γ	35.0	36.0	100.9	212.8	111.9	3.5	sauber	
+	35.0	37.0	91.8	206.1	114.3	3.2	"	
120IE	36.0	35.0	97.6	213.3	115.7	3.5	"	
HCG	36.5	43.0	100.0	240.6	140.6	4.3	"	
	37.0	41.0	115.5	274.1	158.6	3.8	"	
	38.0	47.0	113.9	301.6	187.7	3.5	"	
Summe					828.8			
Durchschnitt					138.1333			
Spannweite					75.8			

b) FSH-Aktivität von Standardpräparaten

Bei den Standardpräparaten NIH-FSH-S₁, NIH-FSH-S₃ und 2.IRP wurden bei den Aktivitätsbestimmungen und Aktivitätsvergleichen Hodengewichtszunahme zwischen durchschnittlich 32 mg bis 126 mg ausgewertet. Die Gültigkeitskriterien (Regression, Linearität und Parallelität) werden in diesen Testberechnungen erfüllt, die Präzisionsmasse sind gut, s. Tab. 7 u. 8 auf S. 81 u. 82.

Vergleiche:

- i) 1 mg NIH-FSH-S₁ = 0.3138 (0.2603 - 0.3757) mg NIH-FSH-S₃
- ii) 1. Vers.: 1 IE 2.IRP = 30.4320 (26.3680 - 35.0640) γ NIH-FSH-S₃
 od. 1 mg NIH-FSH-S₃ = 32.8000 (28.5000 - 37.9000) IE 2.IRP
2. Vers.: 1 IE 2.IRP = 28.8560 (24.9280 - 33.3320) γ NIH-FSH-S₃
 od. 1 mg NIH-FSH-S₃ = 34.6000 (28.9000 - 40.1000) IE 2.IRP

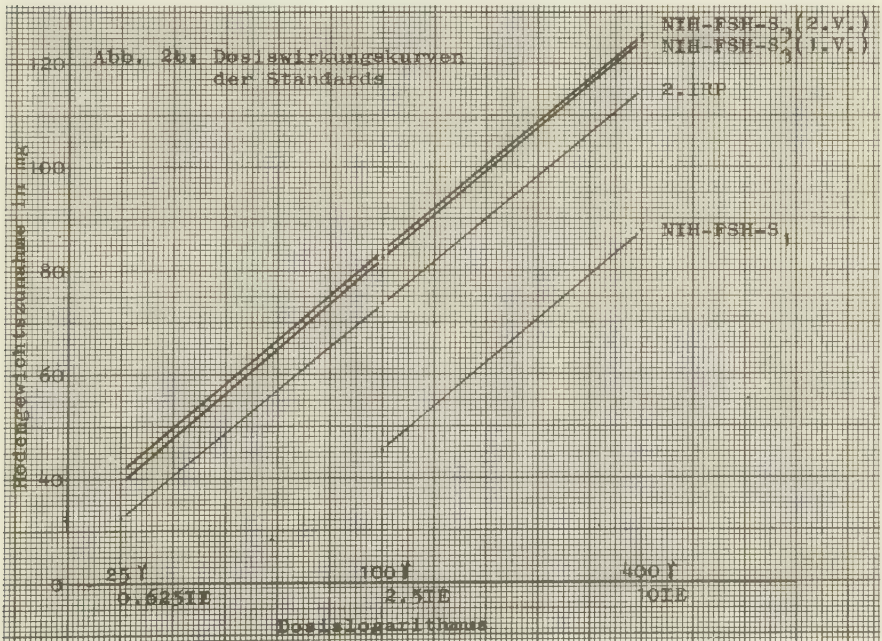


Tabelle 2b: NIH-FSH-S₃ - Testergebnis des 1. Versuches

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 ♂	32.0	37.5	93.7	131.4	37.7	3.7	sauber
+	33.5	41.5	105.0	146.7	41.7	4.3	"
120IE	34.0	39.7	105.5	142.0	36.5	3.8	"
HCG	35.5	37.0	121.1	157.7	36.6	3.9	"
	36.7	40.0	126.8	167.9	41.1	4.0	"
	38.0	42.0	134.7	175.2	40.5	3.8	"
Summe					234.1		
Durchschnitt					39.0166		
Spannweite					5.2		
100 ♂	34.5	40.5	56.6	152.0	95.4	4.2	sauber
+	34.5	42.5	85.6	168.7	83.1	4.1	"
120IE	35.0	43.7	81.1	154.2	73.1	4.0	"
HCG	37.0	47.0	99.4	177.8	78.4	3.9	"
	38.0	45.0	82.7	170.1	87.4	4.0	"
	38.0	44.3	99.1	176.3	77.2	4.2	"
Summe					494.6		
Durchschnitt					82.4333		
Spannweite					22.3		
400 ♂	33.0	45.5	106.0	234.9	128.9	4.3	sauber
+	35.0	46.2	80.9	209.6	118.7	4.5	"
120IE	35.7	48.0	103.6	236.4	132.8	4.7	"
HCG	37.0	48.5	106.5	229.2	122.7	4.4	"
	37.5	47.7	104.2	236.1	131.9	4.8	"
	38.0	49.0	97.9	211.4	113.5	4.1	"
Summe					748.5		
Durchschnitt					124.7500		
Spannweite					19.3		

Tabelle 2b: NIH-FSH-S₃ - Testergebnis des 2. Versuches

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 Y	32.5	38.7	88.8	127.3	36.5	3.8	sauber
+	33.0	40.2	90.8	135.5	44.7	3.9	"
120IE	34.0	40.5	71.7	113.4	41.7	3.9	"
HCG	36.5	39.0	107.0	148.7	41.7	4.0	"
	37.0	42.5	112.4	154.3	41.9	4.0	"
	37.0	43.0	110.2	151.3	41.1	4.1	"
Summe					247.6		
Durchschnitt					41.2666		
Spannweite					8.2		
100 Y	34.0	41.7	109.0	191.8	82.8	4.8	sauber
+	35.5	44.5	87.4	165.8	78.4	4.8	"
120IE	36.0	43.2	136.1	219.2	83.1	4.6	"
HCG	37.0	45.0	148.3	243.7	95.4	5.0	"
	37.0	46.3	107.5	180.6	73.1	4.4	"
	38.0	45.5	125.2	216.1	90.9	4.2	"
Summe					503.7		
Durchschnitt					83.9500		
Spannweite					22.3		
400 Y	34.0	45.0	112.7	244.4	131.7	4.2	sauber
+	34.0	48.5	119.8	235.5	115.7	4.6	"
120IE	35.5	47.2	127.8	260.6	132.8	4.4	"
HCG	36.5	48.0	129.5	261.4	131.9	4.9	"
	37.0	43.0	129.1	247.8	118.7	4.5	"
	38.7	46.7	143.3	266.0	122.7	4.9	"
Summe					753.5		
Durchschnitt					125.5833		
Spannweite					17.1		

Tabelle 2b i): NIH-FSH-S₁ - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 Y	32.3	39.7	74.1	107.8	33.7	3.7	sauber
+	32.8	39.3	92.9	124.7	31.7	3.7	"
120IE	34.0	39.5	78.8	119.3	40.5	3.4	"
HCG	35.3	39.0	98.0	142.5	44.5	3.8	"
	36.0	40.5	125.4	160.0	34.6	3.9	"
	37.5	41.7	166.0	203.2	37.2	3.7	"
Summe					222.3		
Durchschnitt					37.0500		
Spannweite					12.7		
100 Y	33.2	38.0	89.7	133.2	43.5	3.8	sauber
+	33.5	40.0	97.6	139.2	41.9	3.7	"
120IE	34.0	39.5	78.5	134.7	56.2	4.1	"
HCG	35.5	42.0	112.0	157.3	45.3	4.2	"
	37.5	40.5	90.4	121.8	31.4	4.0	"
	38.0	42.8	109.7	164.9	55.2	3.9	"
Summe					273.5		
Durchschnitt					45.5833		
Spannweite					24.8		
400 Y	32.0	42.2	106.7	185.5	78.8	4.3	sauber
+	33.5	40.7	74.8	153.2	78.4	4.5	"
120IE	33.5	41.7	98.5	196.0	97.5	4.1	"
HCG	35.0	43.0	95.6	199.7	94.1	4.7	"
	36.7	42.5	100.6	193.7	93.7	4.6	"
	37.5	41.7	100.9	186.0	85.1	4.2	"
Summe					527.0		
Durchschnitt					87.8333		
Spannweite					19.1		

Tabelle 2b ii): 2.IRP - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
0.625IE	34.0	36.7	83.6	107.5	23.9	3.7	sauber
+	34.5	39.0	104.7	145.3	40.6	3.5	"
120IE	34.5	40.0	96.9	138.1	41.2	3.7	"
HCG	36.0	45.2	94.0	136.6	42.6	3.9	"
	36.5	40.7	97.2	119.9	22.7	3.2	"
	37.5	43.7	85.8	109.7	23.9	4.0	"
Summe					194.9		
Durchschnitt					32.4833		
Spannweite					19.9		
2.5IE	35.0	46.0	90.4	171.9	81.5	4.0	sauber
+	35.0	49.5	108.1	181.7	73.6	4.2	"
120IE	35.5	48.5	96.8	164.6	67.8	4.0	"
HCG	36.5	48.7	111.4	188.2	76.8	4.9	"
	38.0	47.2	106.2	176.0	69.8	4.7	"
	39.0	47.7	117.4	180.5	73.1	4.1	"
Summe					442.6		
Durchschnitt					73.7666		
Spannweite					13.7		
10IE	34.0	44.0	103.0	209.1	106.1	4.2	sauber
+	34.5	43.0	108.4	230.0	121.6	4.2	"
120IE	36.2	49.7	114.9	227.9	113.0	4.6	"
HCG	37.0	48.0	111.0	223.3	112.3	4.5	"
	37.7	48.5	99.1	217.3	118.2	3.9	"
	38.7	50.2	129.3	248.4	119.1	4.6	"
Summe					690.3		
Durchschnitt					115.0500		
Spannweite					15.5		

c) FSH-Aktivität vom Stutenserumgonadotropin (PMS)

Vom Stutenserumgonadotropin wurden die Präparate

i) Anteron (Fa. Schering-Berlin, CK XII, DF AA 071, à 1000IE),

ii) Predalon S (Fa. Organon-München, No.515959, à 400IE)

auf ihre FSH-Aktivität untersucht und auf die Standards
NIH-FSH-S₃ und 2.IRP bezogen.

Ergebnisse:

1IE Anteron = 2.2530 (1.9722 - 2.5725) γ NIH-FSH-S₃
= 0.0748 (0.0651 - 0.0860) IE 2.IRP,

1IE Predalon S = 5.3100 (4.2800 - 6.6750) γ NIH-FSH-S₃
= 0.1739 (0.1381 - 0.2229) IE 2.IRP.

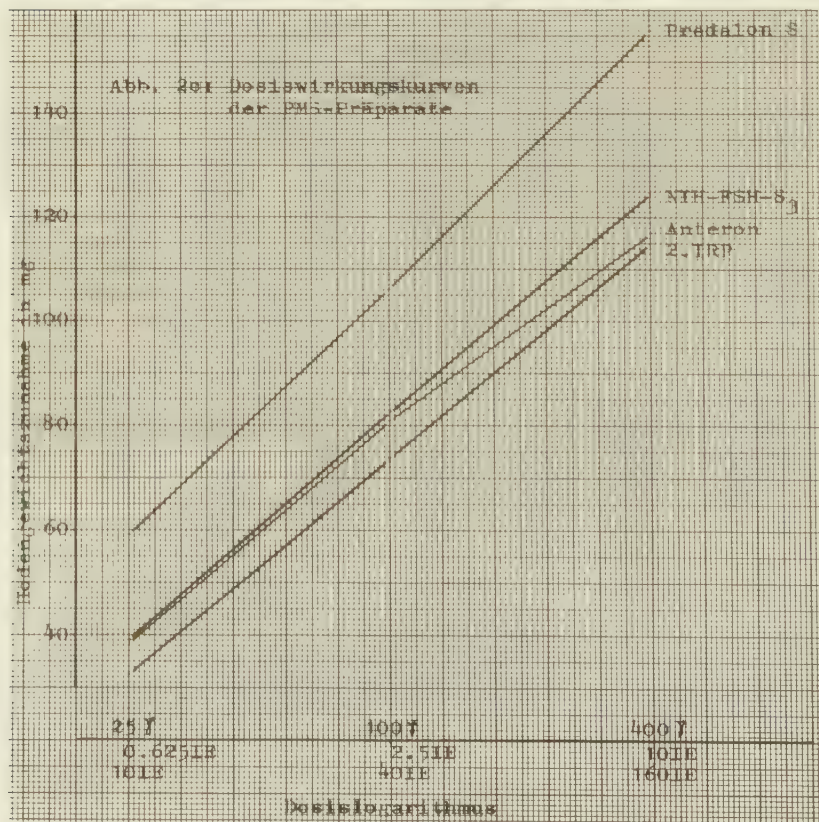


Tabelle 2c 1): Anteron - Testergebnis

Gesamt- Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	33.0	38.7	92.2	134.9	42.7	3.4	sauber
+	33.0	39.5	94.7	134.6	39.9	3.6	"
120IE	35.0	40.5	98.2	137.7	39.5	3.6	"
HCG	36.0	40.5	110.8	148.4	37.6	4.3	"
	37.0	42.0	114.0	149.7	35.7	3.0	"
	37.5	41.7	96.1	132.5	36.4	3.5	"
Summe					231.8		
Durchschnitt					38.6333		
Spannweite					7.0		
40IE	33.5	40.7	103.4	177.6	74.2	3.8	sauber
+	34.7	39.7	71.4	161.6	90.2	4.2	"
120IE	35.5	41.0	92.9	176.3	83.4	4.0	"
HCG	36.5	43.0	115.1	192.0	76.9	3.7	"
	37.0	42.5	106.0	195.3	89.3	4.2	"
	38.0	43.5	120.3	194.0	73.7	3.9	"
Summe					487.7		
Durchschnitt					81.2833		
Spannweite					16.5		
160IE	32.0	40.5	73.9	180.9	107.0	4.0	sauber
+	33.0	42.7	63.9	186.1	122.2	4.3	"
120IE	34.5	42.0	108.2	224.4	116.2	3.9	"
HCG	35.5	44.5	99.0	223.5	124.5	4.2	"
	37.0	44.0	94.7	204.9	110.2	4.1	"
	38.0	45.5	93.2	215.3	122.1	4.3	"
Summe					702.2		
Durchschnitt					117.0333		
Spannweite					17.5		

Tabelle 2c ii): Predalon S - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	32.0	39.5	132.8	179.1	46.3	3.5	sauber
+	34.7	42.5	144.0	211.5	67.5	3.9	"
120IE	34.5	43.0	106.9	175.4	68.5	4.0	"
HCG	35.0	47.2	107.9	176.2	68.3	3.3	"
	36.7	45.5	99.9	148.0	48.1	3.4	"
	38.0	49.2	115.9	170.6	54.7	3.9	"
Summe					353.4		
Durchschnitt					58.9000		
Spannweite					22.2		
40IE	32.0	44.7	136.2	243.3	107.1	4.9	sauber
+	32.0	43.5	141.0	241.1	100.1	4.6	"
120IE	34.5	49.2	142.3	260.8	118.5	4.9	"
HCG	35.5	53.0	109.9	219.5	109.6	4.6	"
	37.0	49.7	128.9	238.1	109.2	4.6	"
	37.7	50.5	118.1	209.6	91.5	4.2	"
Summe					636.0		
Durchschnitt					106.0000		
Spannweite					27.0		
160IE	32.2	46.5	124.4	309.7	185.3	4.1	sauber
+	32.5	47.0	128.6	281.6	153.0	4.1	"
120IE	34.0	50.2	103.4	159.6	156.2	4.9	"
HCG	35.5	52.5	101.0	227.6	126.6	4.9	"
	36.5	52.0	117.2	265.3	148.1	5.1	"
	37.0	51.7	94.2	259.5	165.3	4.8	"
Summe					934.5		
Durchschnitt					155.7500		
Spannweite					58.7		

d) FSH-Aktivität vom menschlichen Postmenopausen Gonadotropin (HMG)

- i) Res.P. 3605, Ampulle à 500IE;
- ii) Res.P. 3835, Ampulle à 1000IE;
- iii) Res.P. 3957, Ampulle à 500IE;
- iv) Res.P. 4116, Ampulle à 1000IE und
- v) Handelspräparat, Fa. Organon-OSS (Holland),
Charge No.501879, Ampulle à 200IE.

Vier Versuchspräparationen und ein Handelspräparat, die in Ampullen zu 200, 500 und 1000 „Einheiten“ vorlagen, wurden auf ihre FSH-Aktivität überprüft. Die deklarierten „Einheiten“ bedeuten FSH-Einheiten nach dem 1.IRP, der nicht mehr zur Verfügung steht. Das Verhältnis von 1.IRP zu 2.IRP wird mit 7:1 angegeben, d.h. 7 mg 1.IRP sollen 1 mg 2.IRP entsprechen.

Im Vergleich zum NIH-FSH-S₃ wurden folgende Aktivitäten ermittelt.

Charge	Dosis- gruppen	1 „Einheit“(nach 1.IRP deklariert) entspricht	
		γ NIH-FSH-S ₃	!(Vertrauensgrenzen)
Res.P. 3605	3 + 2	1.2650	(1.0405 - 1.5140)
Res.P. 3835	3 + 2	3.3050	(2.5775 - 4.2750)
Res.P. 3957	3 + 2	3.9370	(3.1290 - 4.9245)
Res.P. 4116	3 + 3	2.6825	(2.2560 - 3.1875)
Handelspräparat, Charge No.501879, Ampulle à 200IE	3 + 3	2.9900	(2.4212 - 3.7025)

Im Vergleich zum 2.IRP wurden folgende Aktivitäten ermittelt:

Charge	Dosis- gruppen	1 „Einheit“ (nach 1.IRP deklariert) entspricht	
		IE 2.IRP ' Vertrauensgrenzen	
Res.P. 3605	3 + 2	0.0413	(0.0348 - 0.0486)
Res.P. 3835	3 + 2	0.1150	(0.0888 - 0.1519)
Res.P. 3957	3 + 2	0.1357	(0.1070 - 0.1723)
Res.P. 4116	3 + 3	0.0927	(0.0776 - 0.1111)
Handelspräparat, Charge No.501879, Ampulle à 200IE	3 + 3	0.1040	(0.0846 - 0.1289)

Die Gültigkeitskriterien und Präzisionsmasse dieser Tests sind auf Tabellen 7 und 8 auf Seiten 81 und 82 verzeichnet. Für die Präparate Res.P. 3835, Res.P. 3957, Res.P. 4116 und Handelspräparat Charge No.501879 liegen die Aktivitäten zwischen 0.0927 - 0.1357, die Vertrauensgrenzen überschneiden sich. Eine Ausnahme macht das Präparat Res.P. 3605 mit signifikant geringerer Aktivität. Zum Zeitpunkt des Tests war dieses Präparat 3 1/2 Jahre alt, was einen Aktivitätsverlust erklärt.

Amb. 2d: Dosiswirkungskurven
der HMO-Präparate

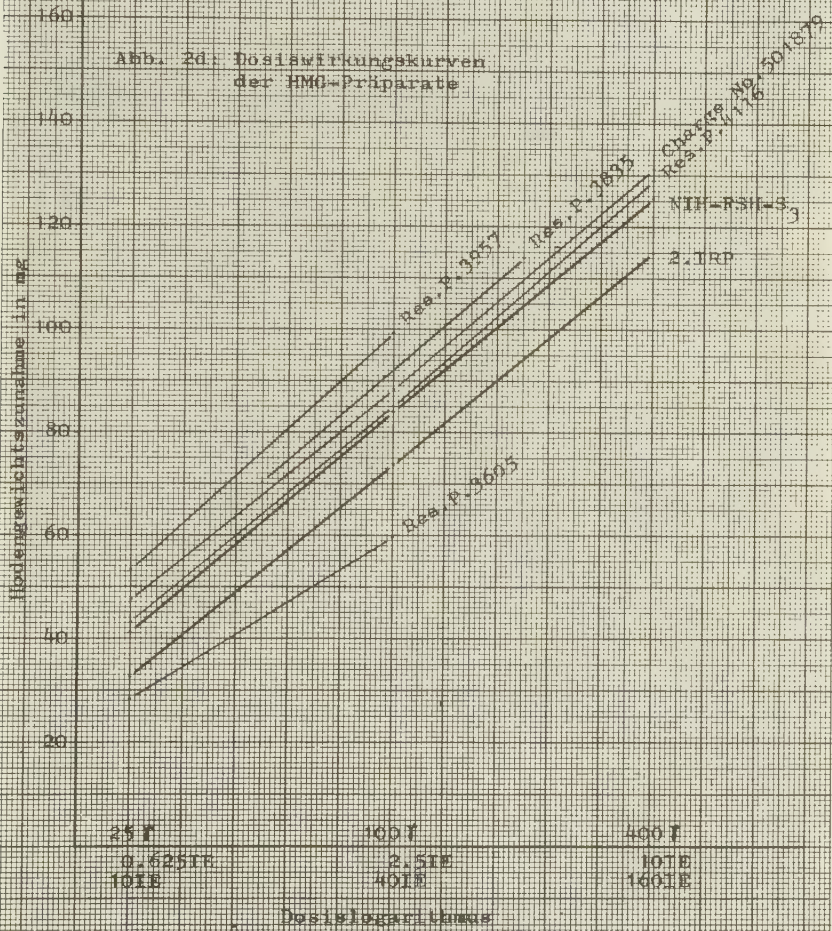


Tabelle 2d 1): Res. P. 3605 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	34.0	45.7	104.9	134.6	29.7	3.7	sauber
+	35.0	40.5	88.4	117.6	29.2	3.6	"
120IE	35.5	43.5	94.2	125.5	31.3	3.6	"
HCG	37.0	46.0	107.3	134.5	27.2	3.6	"
	37.7	40.0	117.2	138.3	21.1	3.9	"
	38.0	41.7	115.5	147.0	31.5	4.0	"
Summe					170.0		
Durchschnitt					28.3333		
Spannweite					10.4		
40IE	35.0	39.5	107.3	173.7	66.4	4.0	sauber
+	35.0	47.2	112.3	167.4	55.1	4.3	"
120IE	36.5	44.0	112.2	168.6	56.4	3.4	"
HCG	36.7	52.0	128.7	198.1	69.4	3.6	"
	38.0	47.0	124.0	180.7	56.7	4.4	"
	38.0	45.5	123.7	177.9	54.2	3.7	"
Summe					358.2		
Durchschnitt					59.7000		
Spannweite					15.2		

Tabelle 2d ii): Res. P. 3835 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. deSella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
20IE	34.0	39.0	73.2	158.5	85.3	4.3	sauber
+	34.0	37.0	85.5	135.4	49.9	3.9	"
120IE	36.0	38.0	91.4	144.3	52.9	4.0	"
HCG	37.5	42.0	107.0	205.5	98.5	4.5	"
	38.0	41.5	90.0	167.4	77.4	4.1	"
	38.0	47.5	95.0	153.1	58.1	4.8	"
Summe					422.1		
Durchschnitt					70.3500		
Spannweite					48.6		
80IE	34.0	32.0	92.9	192.5	99.6	3.6	sauber
+	34.0	39.0	115.9	221.6	105.7	3.8	"
120IE	35.5	41.5	108.8	228.5	119.7	3.8	"
HCG	36.0	48.0	120.3	232.0	111.7	4.7	"
	36.5	40.0	109.7	238.4	128.7	4.6	"
	38.0	46.2	103.6	221.9	118.3	4.6	"
Summe					683.7		
Durchschnitt					113.9500		
Spannweite					29.1		

Tabelle 2d iii): Res. P. 3957 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d. Sella tur. unt. Op. Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	29.0	35.0	99.2	136.8	37.6	3.6	sauber
+	30.0	37.0	83.8	129.1	45.3	3.2	"
120IE	31.0	38.0	93.8	150.9	57.1	3.2	"
HCG	35.0	42.5	127.1	193.7	66.6	3.2	"
	36.5	41.5	113.9	180.0	66.1	3.9	"
	38.0	47.5	113.1	160.1	47.0	3.6	"
Summe					319.7		
Durchschnitt					53.2833		
Spannweite					29.0		
40IE	30.0	40.7	96.6	177.2	80.6	4.0	sauber
+	34.0	37.5	99.3	186.2	86.9	4.0	"
120IE	35.0	39.2	100.7	210.2	109.5	4.0	"
HCG	35.0	40.0	121.1	239.7	118.6	4.9	"
	35.5	50.0	128.0	216.4	88.4	4.7	"
	37.0	49.5	135.8	246.5	110.7	5.2	"
Summe					594.7		
Durchschnitt					99.1166		
Spannweite					38.0		

Tabelle 2d iv): Res. P. 4116 - Testergebnis

Gesamt- Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	34.0	40.2	84.2	118.0	33.8	2.7	sauber
+	35.0	42.0	74.4	114.5	40.1	3.1	"
120IE	35.0	37.5	88.2	118.1	29.9	3.6	"
HCG	36.0	35.5	79.3	143.5	64.2	3.6	"
	36.0	38.5	95.0	125.1	30.1	2.9	"
	37.0	46.7	92.8	154.3	61.5	3.8	"
Summe					259.6		
Durchschnitt					43.2666		
Spannweite					34.3		
40IE	33.5	39.2	81.8	155.9	74.1	3.5	sauber
+	35.5	44.0	96.9	181.0	84.1	4.1	"
120IE	36.0	42.2	82.4	174.1	91.7	3.8	"
HCG	36.0	40.5	91.8	170.0	78.2	3.5	"
	36.0	43.2	93.9	188.3	94.4	3.8	"
	37.0	40.2	98.8	186.0	87.2	3.7	"
Summe					509.7		
Durchschnitt					84.9500		
Spannweite					20.3		
160IE	34.0	44.7	96.3	234.9	138.6	3.9	sauber
+	34.5	36.7	105.3	227.9	122.6	3.5	"
120IE	36.0	42.0	104.7	239.1	134.4	3.2	"
HCG	36.0	44.2	119.6	245.6	126.0	3.9	"
	37.0	41.2	102.7	225.8	123.1	4.1	"
	37.5	45.0	137.7	267.1	129.4	3.9	"
Summe					774.1		
Durchschnitt					129.0166		
Spannweite					16.0		

Tabelle 2d v): Charge No. 50 18 79 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
10IE	32.5	41.3	79.3	121.3	42.0	3.7	sauber
+	32.5	35.0	82.6	130.6	48.0	3.0	"
120IE	34.0	34.3	77.3	120.0	42.7	2.9	"
HCg	36.0	40.5	89.6	147.5	57.9	3.5	"
	36.0	40.0	96.6	153.3	56.7	3.9	"
	36.0	38.6	86.9	125.7	38.8	3.3	"
Summe					286.1		
Durchschnitt					47.6833		
Spannweit					19.1		
40IE	32.0	43.7	65.8	147.4	81.6	4.0	sauber
+	33.0	45.5	94.4	179.8	85.4	3.6	"
120IE	33.7	46.0	78.4	173.6	95.2	4.0	"
HCg	35.0	48.7	101.5	209.1	107.6	4.2	"
	37.0	45.0	106.2	179.7	73.5	4.2	"
	38.0	47.0	124.5	210.5	86.0	4.0	"
Summe					529.3		
Durchschnitt					88.2166		
Spannweite					34.1		
160IE	31.0	36.7	114.7	264.1	149.4	4.5	sauber
+	34.0	38.5	114.7	239.5	124.8	4.1	"
120IE	35.5	38.5	118.6	233.4	114.8	4.9	"
HCg	38.0	43.7	103.6	241.6	138.0	4.0	"
	39.0	47.5	132.5	257.2	124.7	3.9	"
	41.0	47.0	104.1	239.5	135.4	3.7	"
Summe					787.1		
Durchschnitt					131.1833		
Spannweite					34.6		

- e) FSH-Aktivität eines Gonadotropins, das aus Schafhypophysen hergestellt wurde.

Zwei Research Präparate, SH₈₂₀ Charge 2 und SH₈₂₀ Charge 3, der Firma Schering A.G., Berlin.

Das Präparat wurde zu Versuchszwecken zur Verfügung gestellt und enthielt für

i) SH₈₂₀ Charge 2 ca. 17.5 mg Substanz pro Ampulle und

ii) SH₈₂₀ Charge 3 zwischen 7.0 bis 7.6 mg pro Ampulle.

Die FSH-Aktivitäten betrugen

Charge	Dosis- gruppen	FSH-Aktivität pro γ Substanz in γ NIH-FSH-S ₃ (Vertrauensgrenzen)	
SH ₈₂₀ Charge 2	3 + 3	0.1232	(0.1004 - 0.1496)
SH ₈₂₀ Charge 3	3 + 3	0.2990	(0.2532 - 0.3540)

Charge	Dosis- gruppen	FSH-Aktivität pro γ Substanz in IE 2.IRP (Vertrauensgrenzen)	
SH ₈₂₀ Charge 2	3 + 3	0.0042	(0.0032 - 0.0055)
SH ₈₂₀ Charge	3 + 3	0.0103	(0.0089 - 0.0124)

Die Gültigkeitskriterien und Präzisionsmasse dieser Teste sind auf Tabelle 7 auf Seite 81 verzeichnet.

1 Ampulle dieses Präparates der Charge 2 hat damit eine FSH-Aktivität, die 2.1560 (1.7570 - 2.6180) mg NIH-FSH-S₃ und 73.50 (56.00 - 96.25) IE 2.IRP äquivalent ist.

1 Ampulle zu 7 mg des Präparates der Charge 3 hat eine FSH-Aktivität, die 2.0930 (1.7724 - 2.4780) mg NIH-FSH-S₃ und 72.1 (62.3 - 84.7) IE 2.IRP äquivalent ist.

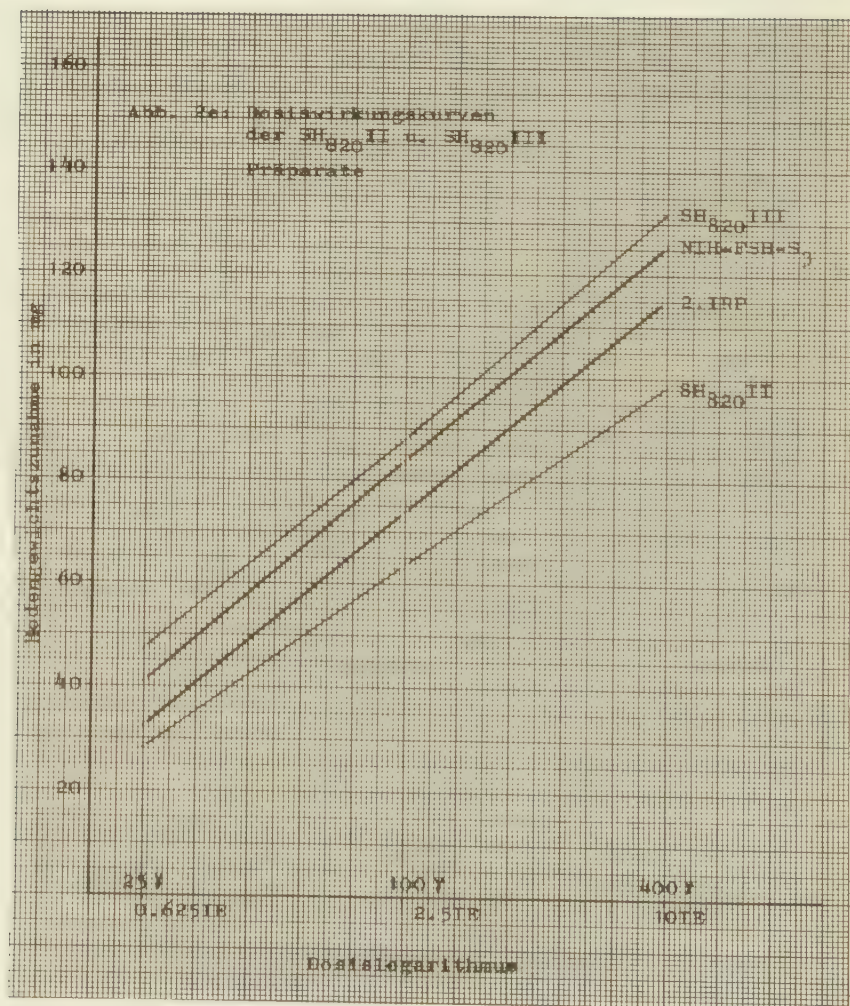


Tabelle 2a i): SH₈₂₀ Charge 2 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
100 γ	32.0	37.5	96.3	126.0	29.7	4.2	sauber
+	33.0	38.7	110.8	142.3	31.5	3.9	"
120IE	34.0	44.0	97.9	120.5	22.6	4.5	"
HCG	35.0	38.7	111.3	131.5	20.2	4.0	"
	35.5	48.5	101.7	131.9	30.2	4.8	"
	37.0	42.0	107.6	142.2	34.6	3.8	"
Summe					168.8		
Durchschnitt					28.1333		
Spannweite					14.4		
400 γ	32.0	38.7	62.2	106.2	44.0	2.6	sauber
+	33.0	36.0	70.8	150.7	79.9	3.3	"
120IE	33.0	35.0	82.7	136.1	53.4	3.7	"
HCG	34.0	40.0	75.5	145.0	69.5	3.5	"
	35.0	38.7	87.3	164.3	77.0	3.0	"
	37.5	46.0	138.4	196.1	57.7	3.8	"
Summe					381.5		
Durchschnitt					63.5833		
Spannweite					35.9		
1600 γ	34.0	36.0	104.2	197.5	93.3	3.2	sauber
+	34.0	36.3	131.4	216.2	84.8	3.1	"
120IE	35.0	39.7	116.7	224.7	108.0	3.8	"
HCG	39.5	52.5	126.6	225.0	98.4	3.7	"
	40.5	45.0	125.4	230.6	105.2	3.9	"
	42.0	45.0	128.4	228.9	100.5	3.2	"
Summe					590.2		
Durchschnitt					98.3666		
Spannweite					23.2		

Tabelle 2e ii): SH₈₂₀ Charge 3 - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
100 Y	31.0	33.0	104.3	152.8	48.5	3.6	sauber
+	33.0	35.5	105.7	156.5	50.8	3.7	"
120IE	34.0	34.0	98.7	145.2	46.5	2.6	"
HCG	34.0	36.5	114.2	171.1	56.9	3.3	"
	36.0	40.0	110.0	149.5	39.5	3.4	"
	36.0	52.5	133.2	173.7	40.5	3.4	"
Summe					282.7		
Durchschnitt					47.1166		
Spannweite					17.4		
400 Y	35.0	45.5	120.5	207.2	86.7	4.0	sauber
+	36.0	40.2	117.7	200.1	82.4	3.6	"
120IE	36.0	45.0	116.8	199.1	82.3	4.3	"
HCG	36.0	42.0	140.5	232.9	92.4	3.6	"
	38.0	48.3	128.0	219.5	91.5	4.7	"
	38.0	46.0	134.2	226.8	92.6	4.3	"
Summe					527.9		
Durchschnitt					87.9833		
Spannweite					10.3		
1600 Y	34.0	42.2	104.7	217.3	112.6	3.8	sauber
+	35.0	50.5	99.6	231.3	131.7	4.2	"
120IE	36.0	49.5	93.8	229.2	135.4	4.0	"
HCG	37.0	45.0	106.0	222.1	116.1	4.7	"
	37.0	49.5	118.4	264.3	145.9	4.0	"
	38.0	48.0	113.2	264.3	151.1	4.9	"
Summe					792.8		
Durchschnitt					132.1333		
Spannweite					38.5		

f) Im Hormonlaboratorium der I. Frauenklinik der Universität-München wurden menschlichen Hypophysen, die post mortem gewonnen in Aceton im Kühlschrank gesammelt waren nach der von Bettendorf et al. (1962) modifizierten Methode von König und King (1950) aufgearbeitet. Um den Einfluss der Dialyse auf Ausbeute und Reinheit zu untersuchen, wurden von 75 menschlichen Hypophysen jeweils drei gleiche Teile gebildet. Ein Teil wurde gegen Wasser, ein Teil gegen Titriplex und ein Teil gegen GSH (Gutation) dialysiert. Nach der Gefriertrocknung wurden die FSH-Aktivitäten dieser drei Fraktionen bestimmt.

i) 17. Hypophysenaufarbeitung (HHG 17)

Bei den verschiedenen Dialysen wurden aus jeweils gleichen Mengen Ausgangsmaterial folgende Substanzmengen nach Gefriertrocknung erhalten:

- aa) Dialyse gegen Wasser 22.2 mg und
- bb) Dialyse gegen Titriplex 184.3 mg.

ii) 18. Hypophysenaufarbeitung (HHG 18)

(Aufarbeitung von 73 menschlichen Hypophysen)

Gleiche Ausgangsmengen ergaben folgende Substanzmengen nach der Dialyse:

- aa) gegen Wasser 24.5 mg,
- bb) gegen Titriplex 160.0 mg und
- cc) gegen GSH (Gutation) 162.5 mg.

i) FSH-Aktivität pro γ Substanz:

Fraktion	Dosis- gruppen	FSH-Aktivität	
		in γ NIH-FSH-S ₃	Vertrauensgrenzen
HHG 17 H ₂ O	3 + 3	0.7695	(0.6564 - 0.8999)
HHG 17 Titriplex	3 + 3	0.2294	(0.1773 - 0.2896)

i) Die Gesamtausbeute betrug demnach:

Fraktion	Gesamtausbeute an FSH in mg NIH-FSH-S ₃	
HHG 17 H ₂ O	17.0829	(14.5720 - 19.9777)
HHG 17 Titriplex	42.2784	(32.6763 - 53.3732)

ii) FSH-Aktivität pro γ Substanz

Fraktion	Dosis- gruppen	FSH-Aktivität	
		in γ NIH-FSH-S ₃ Vertrauensgrenzen	
HHG 18 H ₂ O	3 + 3	0.7013	(0.5795 - 0.8447)
HHG 18 Titriplex	3 + 3	0.3008	(0.2293 - 0.3952)
HHG 18 GSH	3 + 3	0.1310	(0.0980 - 0.1693)

ii) Die Gesamtausbeute betrug demnach:

Fraktion	Gesamtausbeute an FSH in mg NIH-FSH-S ₃	
HHG 18 H ₂ O	17.1818	(14.1976 - 20.6950)
HHG 18 Titriplex	48.1280	(36.6879 - 61.6319)
HHG 18 GSH	21.2875	(15.9249 - 27.5112)

Die Gültigkeitskriterien und Präzisionsmasse sind in der Tabelle 7 auf Seite 81 angegeben.

Für die Substanz HHG 18 GSH (Gutation) sind im Test die Gültigkeitskriterien für die Parallelität jedoch nicht erfüllt.

Für HHG 17 Titriplex sind alle Gültigkeitskriterien nicht erfüllt.

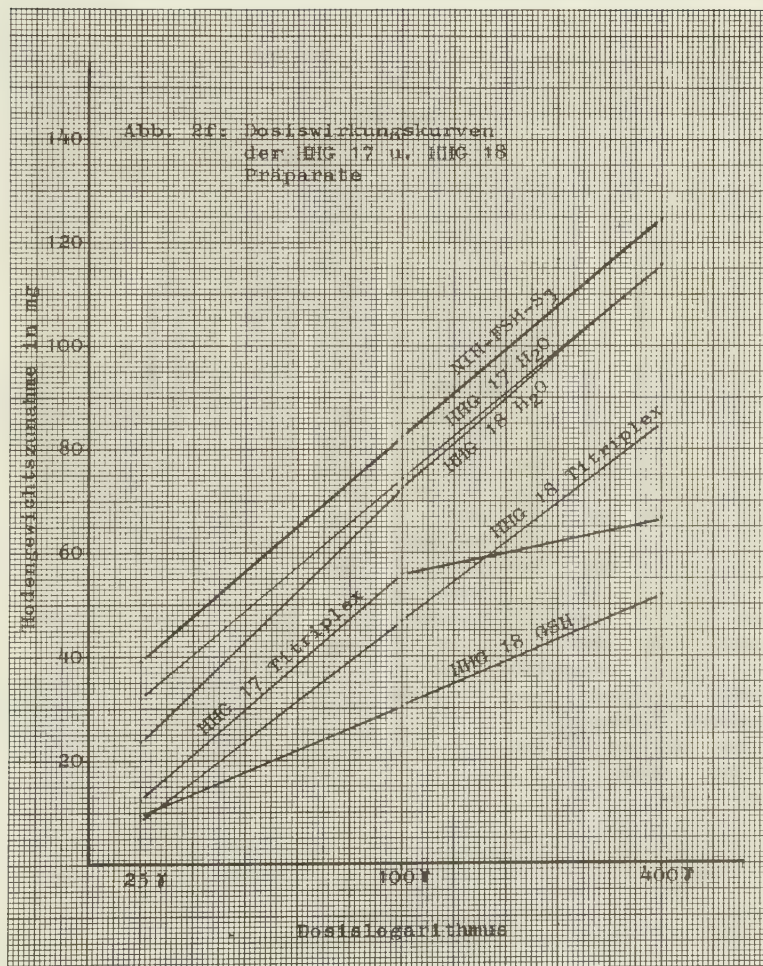


Tabelle 2f i) aa): HHG₁₇(H₂O) - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 ♂	33.5	39.0	94.2	128.8	34.6	3.8	sauber
+	34.0	38.5	87.8	126.9	39.1	3.9	"
120IE	35.0	40.7	89.9	124.2	34.3	3.7	"
HCG	36.0	43.0	99.9	129.1	29.2	3.5	"
	37.5	41.5	98.8	131.6	32.8	4.0	"
	38.0	44.5	110.4	131.5	21.1	3.8	"
Summe					191.1		
Durchschnitt					31.8500		
Spannweite					18.0		
100 ♂	34.0	40.5	137.5	205.6	68.1	3.9	sauber
+	36.0	42.7	97.6	178.5	80.9	4.0	"
120IE	36.5	41.5	97.5	168.9	71.4	3.8	"
HCG	37.0	43.0	75.7	144.8	69.1	4.1	"
	38.0	42.5	102.9	175.9	73.0	4.2	"
	38.0	45.0	107.7	190.8	83.1	4.0	"
Summe					445.6		
Durchschnitt					74.2666		
Spannweite					15.0		
400 ♂	33.0	43.0	102.1	227.6	125.5	4.5	sauber
+	34.5	45.0	120.7	236.5	115.8	4.1	"
120IE	35.7	40.2	104.3	226.8	122.5	4.2	"
HCG	36.5	43.0	138.0	255.6	117.6	4.0	"
	38.0	44.7	105.1	221.5	116.4	4.2	"
	38.0	45.5	84.2	182.3	98.1	3.9	"
Summe					695.9		
Durchschnitt					115.9833		
Spannweite					27.4		

Tabelle 2f i) bb): HHG₁₇(Titriplex) - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 ♂	32.0	38.5	106.9	110.6	3.7	4.6	sauber
+	32.5	37.0	115.7	120.3	4.6	3.8	"
120IE	34.5	40.0	81.0	118.7	37.7	4.6	"
HCG	36.0	41.7	89.4	111.3	21.9	4.8	"
	37.5	42.0	119.9	121.7	1.8	3.8	"
	38.0	43.5	101.6	105.3	3.7	3.9	"
Summe					73.4		
Durchschnitt					12.2333		
Spannweite					35.9		
100 ♂	32.0	39.7	90.5	139.2	48.7	3.0	sauber
+	34.0	41.5	113.8	165.7	51.9	3.0	"
120IE	36.0	43.0	107.1	162.4	55.3	4.6	"
HCG	37.0	40.2	75.0	139.9	64.9	4.1	"
	37.0	44.0	95.2	143.0	47.8	4.7	"
	38.0	43.2	90.3	156.1	65.8	3.8	"
Summe					334.4		
Durchschnitt					55.7333		
Spannweite					18.0		
400 ♂	33.0	40.7	131.2	195.6	64.4	4.1	sauber
+	34.0	42.7	98.5	159.2	60.7	5.0	"
120IE	35.5	40.2	70.6	133.4	62.8	4.4	"
HCG	36.0	43.5	92.2	160.8	68.6	5.4	"
	37.5	44.0	97.5	165.0	67.5	5.6	"
	38.0	45.0	95.9	171.5	75.6	4.8	"
Summe					399.6		
Durchschnitt					66.6000		
Spannweite					14.9		

Tabelle 2f 11) aa): HHG₁₈(H₂O) - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 Y	32.0	39.5	95.0	131.7	36.7	3.9	sauber
+	34.0	41.0	89.9	111.6	21.7	3.6	"
120IE	35.0	40.7	77.4	102.8	25.4	3.9	"
HCG	36.0	42.2	80.7	96.2	15.5	3.7	"
	37.0	42.0	132.9	150.8	17.9	3.8	"
	38.0	43.0	113.5	138.5	25.0	4.0	"
Summe					142.2		
Durchschnitt					23.7000		
Spannweite					21.2		
100 Y	32.0	40.5	119.7	175.9	56.2	4.0	sauber
+	33.5	41.7	96.2	171.9	75.7	4.2	"
120IE	34.7	40.7	128.0	183.6	55.6	3.9	"
HCG	36.5	42.0	109.2	197.3	88.1	4.0	"
	37.5	44.2	128.0	204.7	76.7	4.1	"
	38.0	43.5	125.7	207.3	81.6	4.3	"
Summe					433.9		
Durchschnitt					72.3166		
Spannweite					32.5		
400 Y	33.0	43.0	112.3	230.5	118.2	4.1	sauber
+	34.3	40.5	119.7	215.0	95.3	3.9	"
120IE	35.5	43.5	127.8	256.0	128.2	4.0	"
HCG	36.0	44.7	86.1	196.6	110.5	4.0	"
	36.0	43.0	72.6	190.8	118.2	4.3	"
	37.0	42.5	87.7	213.3	125.6	4.1	"
Summe					696.0		
Durchschnitt					116.0000		
Spannweite					32.9		

Tabelle 2f ii) bb): HHG₁₈(Titriplex) - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 Y	33.0	38.0	83.6	85.4	1.8	3.8	sauber
+	36.0	39.0	88.9	93.6	4.7	3.8	"
120IE	36.5	39.0	105.9	131.4	25.5	3.9	"
HCG	37.0	43.0	107.3	115.3	8.0	3.6	"
	37.5	41.7	115.2	120.5	5.3	3.7	"
	38.0	42.5	80.7	87.2	6.5	3.5	"
Summe					51.8		
Durchschnitt					8.6333		
Spannweite					23.7		
100 Y	35.0	39.5	100.1	158.4	58.3	3.7	sauber
+	35.5	42.5	138.7	202.9	64.2	4.0	"
120IE	36.0	40.7	98.0	133.0	35.0	4.1	"
HCG	37.0	44.0	95.6	132.8	37.2	3.8	"
	38.0	43.7	90.2	137.6	47.4	3.9	"
	38.0	42.5	121.7	161.0	39.3	3.7	"
Summe					281.4		
Durchschnitt					46.9000		
Spannweite					29.2		
400 Y	33.2	41.0	124.7	208.0	83.3	3.9	sauber
+	35.0	40.5	109.6	181.6	72.0	4.0	"
120IE	35.0	39.5	104.7	195.8	91.1	4.2	"
HCG	36.0	43.0	95.4	166.8	71.4	3.8	"
	37.5	44.5	119.0	218.2	99.2	4.1	"
	38.0	42.7	106.9	201.0	94.1	4.0	"
Summe					511.1		
Durchschnitt					85.1833		
Spannweite					27.8		

Tabelle 2f 11) cc): HHG₁₈(GSH) - Testergebnis

Gesamt-Dosis pro Testtier	Körp.-Gew. in g		Hodengewicht in mg			N.N. Gew. in mg	Hypophyse: Untersuchg. d.Sella tur. unt.Op.Mikr.
	am 1.Tag	am 8.Tag	am 1.Tag rechts	am 8.Tag links	Zunahme		
25 Y	35.0	38.0	128.5	138.3	9.8	3.7	sauber
+	35.5	37.5	112.1	119.6	7.5	3.6	"
120IE	36.0	39.5	107.5	118.0	10.5	3.0	"
HCG	36.0	38.5	108.6	118.3	9.7	3.2	"
	37.5	40.0	128.2	137.7	9.5	3.4	"
	38.0	40.7	111.7	122.0	10.3	3.3	"
Summe					57.3		
Durchschnitt					9.5500		
Spannweite					3.0		
100 Y	36.0	40.5	127.3	179.7	52.4	3.5	sauber
+	36.0	39.0	103.3	119.9	16.6	3.5	"
120IE	36.5	39.5	79.6	101.8	21.2	3.9	"
HCG	37.0	42.0	122.4	148.2	25.8	3.6	"
	38.0	40.0	114.7	145.7	31.0	3.8	"
	38.0	41.2	113.6	149.8	36.2	3.7	"
Summe					183.2		
Durchschnitt					30.5333		
Spannweite					35.8		
400 Y	35.0	40.5	90.7	138.6	47.9	4.2	sauber
+	35.0	44.2	122.0	188.2	66.2	4.0	"
120IE	36.0	42.0	105.9	143.8	37.9	3.8	"
HCG	37.0	41.5	131.4	196.4	65.0	4.0	"
	38.0	43.0	120.5	158.1	37.6	3.9	"
	38.0	44.5	126.2	183.4	57.2	4.1	"
Summe					311.8		
Durchschnitt					51.9666		
Spannweite					28.6		

Abelle 7: Auswertungsergebnisse verschiedener Präparate
im Vergleich gegen den Standard NIH-FSH-S₃ mit
dem Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh(1951)

St. v.	pro gamma od. "E" Präparat	Tier- anzahl pro Gruppe	Dosis- gruppen	Regressions- koeffizient	Standard- abweichung	Tafel- wert	Regression	Linearität				Parallelität	Gleiche Wirkung	Präzisionsmasse		Relative Aktivität	Vertrauensgrenzen	
								t	t	t	t			λ	L		in gamma NIH-FSH-S ₃	in Prozent
i)	NIH-FSH-S ₃	6	3 + 2	71.0021	7.1653	2.06	0.0079	-	-0.1535	-	-	-0.1333	-5.3770	0.1009	9.9091	0.3138	0.2603 - 00.3757	82.9 - 119.7
i)	2.IRP (1.)	6	3 + 3	69.8920	6.3134	2.04	0.0039	0.0000	-0.1742	-0.1231	0.1232	-0.6143	-3.9441	0.0903	11.0704	30.4320	26.3680 - 35.0640	86.6 115.2
	(2.)	6	3 + 3	69.3036	6.3660	2.04	0.0040	0.0000	-0.1649	-0.1166	0.1166	-0.3366	-4.6339	0.0918	10.8865	28.8560	24.9280 - 33.3320	86.4 115.5
i)	Anteron	6	3 + 3	68.1616	5.7801	2.04	0.0034	1.1937	-0.1902	0.7095	0.9786	-1.5538	-1.6003	0.0847	11.7924	2.2530	1.9722 - 2.5725	87.5 - 114.2
i)	Predalon S	6	3 + 3	75.8235	10.1844	2.04	0.0086	0.2602	-0.1079	0.2603	0.1076	1.3368	7.3101	0.1343	7.4450	5.3100	4.2800 - 6.6750	80.6 - 125.7
i)	Res.P.3605	6	3 + 2	66.3255	5.7828	2.06	0.0059	-	-0.1815	-	-	-2.8910	-18.3672	0.0871	11.4694	1.2650	1.0405 - 1.5140	82.6 - 119.7
i)	Res.P.3835	6	3 + 2	70.3897	9.8987	2.06	0.0154	-	-0.1060	-	-	0.2229	2.3177	0.1406	7.1110	3.3050	2.5775 - 4.2750	77.9 - 129.3
i)	Res.P.3937	6	3 + 2	71.2513	9.0534	2.06	0.0126	-	-0.1159	-	-	0.6288	-2.1932	0.1270	7.8701	3.9370	3.1290 - 4.9245	79.5 - 125.1
v)	Res.P.4116	6	3 + 3	70.6255	7.7815	2.04	0.0058	0.3062	-0.1349	0.1211	0.3119	0.2885	0.8267	0.1101	9.0760	2.6825	2.2560 - 3.1875	84.1 - 118.8
v)	No.501879	6	3 + 3	69.6911	8.9138	2.04	0.0078	0.2729	-0.1178	0.1097	0.2763	-0.1122	1.7313	0.1279	7.8183	2.9900	2.4212 - 3.7025	80.9 - 123.8
i)	SH ₈₂₀ Ch.2	6	3 + 3	65.8430	7.9724	2.04	0.0070	-0.0836	-0.1317	-0.1522	0.0340	-2.1635	-7.6160	0.1210	9.2588	0.1232	0.1004 - 0.1496	81.5 - 121.4
i)	SH ₈₂₀ Ch.3	6	3 + 3	70.3210	7.4918	2.04	0.0054	0.4482	-0.1401	0.2107	0.4090	0.1144	2.1935	0.1065	9.3863	0.2990	0.2532 - 0.3540	84.7 - 118.4
a)	HHG17(H ₂ O)	6	3 + 3	70.5425	7.0573	2.04	0.0047	0.0992	-0.1558	-0.1803	0.0400	-0.2776	-3.4149	0.1000	9.9269	0.7695	0.6564 - 0.8999	85.3 - 116.9
b)	HHG17(Tit.)	6	3 + 3	58.1810	7.6103	2.04	0.0081	-4.2880	-0.1445	-3.1343	-2.9299	-5.0478	-14.6690	0.1308	7.6450	0.2294	0.1773 - 0.2896	77.3 - 126.2
a)	HHG18(H ₂ O)	6	3 + 3	73.9340	8.7821	2.04	0.0067	-0.5526	-0.1232	-0.4857	-0.3086	0.9157	-3.8924	0.1187	8.4187	0.7013	0.5795 - 0.8447	82.6 - 120.4
b)	HHG18(Tit.)	6	3 + 3	67.3933	9.8355	2.04	0.0101	0.0016	-0.1118	-0.0778	0.0802	-1.1435	-10.7247	0.1459	6.8520	0.3008	0.2293 - 0.3852	76.2 - 128.1
c)	HHG18(GSH)	6	3 + 3	58.2018	7.5181	2.04	0.0079	0.0598	-0.1463	-0.0611	-0.1457	-7.0566	-20.5041	0.1291	7.7415	0.1310	0.0980 - 0.1693	74.8 - 129.2

Tabelle 8: Auswertungsergebnisse verschiedener Präparate
im Vergleich gegen den Standard 2.IRP mit dem
Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh (1951).

Test No.	pro gamma od. "E" Präparat	Tier- anzahl pro Dos.Gr.	Dosis- gruppen	Regressions- koeffizient	Standard- abweichung	Tafel- wert	Regression	Linearität		
		n	k + k'	b	s	t	g	t	t	t
2b										
1.)	NIH-FSH-S ₃	6	3 + 3	69.8900	6.3133	2.04	0.0030	-0.0871	+0.0690	-0.0615
2.)	NIH-FSH-S ₃	6	3 + 3	69.3014	6.3855	2.04	0.0040	-0.1644	0.0000	-0.1162
2ci	Anteron	6	3 + 3	66.8465	5.9315	2.04	0.0036	1.1632	0.0000	0.8225
ii)	Predalon S	6	3 + 3	74.5084	10.3358	2.04	0.0091	0.2564	0.0000	0.1814
2di	Res.P.3605	6	3 + 2	61.9601	5.1013	2.06	0.0052	-	0.0000	-
ii)	Res.P.3835	6	3 + 2	69.3431	10.0172	2.06	0.0156	-	0.0000	-
iii)	Res.P.3957	6	3 + 2	68.0533	9.1837	2.06	0.0118	-	0.0000	-
iv)	Res.P.4116	6	3 + 3	69.8988	7.8802	2.04	0.0060	0.3026	0.0000	0.2140
v)	No.501879	6	3 + 3	68.8644	9.0128	2.04	0.0081	0.2700	0.0000	0.1909
2ei	SH ₈₂₀ Ch.2	6	3 + 3	63.4551	10.3095	2.04	0.0126	-0.0646	0.0000	-0.0457
ii)	SH ₈₂₀ Ch.3	6	3 + 3	69.5943	6.9323	2.04	0.0052	0.5063	0.0000	0.3581

	Parallelität	Gleiche Wirkung	Präzisionsmasse		Relative Aktivität	Vertrauensgrenzen	
t	t	t	λ	L		in IE 2.IRP	in Prozent
-0.0616	0.6544	3.9440	0.0903	11.0702	0.0728	0.0280 - 0.0379	88.8 - 118.1
-0.1162	0.3356	4.6201	0.0921	10.8527	0.0746	0.0283 - 0.0401	87.5 - 115.9
0.8225	-0.8603	2.5930	0.0887	11.2695	0.0748	0.0551 - 0.0860	87.0 - 114.9
0.1814	1.6898	9.9052	0.1387	7.2091	0.1732	0.1381 - 0.2220	79.5 - 128.2
-	-3.0117	-15.6517	0.0823	12.1460	0.0413	0.0348 - 0.0486	84.1 - 117.5
-	0.3737	4.9244	0.1444	6.9230	0.1130	0.0888 - 0.1519	77.2 - 117.1
-	0.7506	6.7105	0.1349	7.4100	0.1137	0.1070 - 0.1723	78.8 - 126.9
0.2140	0.4953	4.5634	0.1127	8.8702	0.0927	0.0776 - 0.1111	83.8 - 119.9
0.1909	0.1268	5.0755	0.1306	7.6520	0.1040	0.0846 - 0.1289	81.4 - 123.7
-0.0457	-1.4652	-3.0279	0.1620	6.1695	0.0042	0.0032 - 0.0055	76.8 - 129.0
0.3581	0.6096	6.6270	0.0996	10.0389	0.0103	0.0089 - 0.0121	90.8 - 115.9

F. DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Die für FSH-Aktivität spezifischen Testverfahren sind aus der Tabelle 1 auf Seite 13 ersichtlich. Die präzisen und spezifischen Verfahren lösen eine primäre Reaktion an den Gonaden aus. FSH-Aktivität bewirkt das Follikelwachstum in der Ovarien und stimuliert die Spermiogenese in den Sertolizellen des Hodens. ICSH-Aktivität löst gemeinsam mit FSH-Aktivität in der Ovarien die Oestrogenbildung und Ovulation aus, die Umwandlung der Granulosazellen in Granulosaluteinzellen wird eingeleitet. In den Hoden werden die Aktivität der Leydigzellen und die Androgenbildung angeregt, die Gonaden nehmen an Gewicht zu.

Paesi, Wijnen und de Jongh (1951) entwickelten aus dem Angaben von Greep, van Dyke und Chow (1940) ein empfindliches Testverfahren für FSH-Aktivität, s. Methodik auf S. 21. Der Augmentationstest nach Steelman und Pohley (1953), s. S. 19, beruht auf Beobachtungen von Evans, Simpson, Tolksdorf und Jensen (1939).

Zunächst wurde im Hormonlaboratorium der I. Frauenklinik der Universität München die biologische FSH-Aktivitätsbestimmung nach Steelman und Pohley versucht. In mehreren Versuchen waren die Ergebnisse nicht befriedigend. Die Dosiswirkungskurven waren meist flach, daraus ergab sich im Verhältnis ein kleiner statistisch nicht gesicherter Regressionskoeffizient (b), die Spannweite war im Verhältnis meist gross, damit waren auch Standardabweichung (s), Reststreuung (s^2), Streuung der Gruppendurchschnitte (V), Streuungen der Vergleiche ($V(E)$, $V(F)=A$) und Streuung des Regressionskoeffizienten ($V(b)$) gross.

Diese Werte, kleines (b) und ($V(b)$) führen wiederum zu einer grossen Regression (g), welche jedoch je kleiner desto besser ist. Das bedingt schlechte Präzisionsmasse (u und L), sowie breite Vertrauensgrenzen, s. Tab.4, S.44.

Nach dem Erlernen der Hypophysektomie und Orchidektomie wurde mit demselben Tierstamm der Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh nachgearbeitet. Zuerst wurden bei 14 Tieren das rechte und linke Hodengewicht untersucht, und es ergaben sich nur geringfügige Schwankungen zwischen rechtem und linkem Hodengewicht, die ausseracht gelassen werden dürfen, s. Abb. 4 auf S. 46. Die Ergebnisse beim Test nach Paesi et al. stellten sich als sehr befriedigend heraus. Der Anstieg der Dosiswirkungskurven des NIH-FSH- S_3 Standards im Bereich von ca. 39-125 mg Hodengewichtszunahme im ersten Versuch und ca. 41-126 mg im zweiten war steil, die Linearität und Parallelität bei Vergleichstesten waren bis auf wenige Ausnahmen sehr gut. Die Schwankungen der einzelnen Hodengewichtswerte waren im Verhältnis meist klein (kleine Spannweite). Damit waren die Präzisionsmasse gut und die Vertrauensgrenzen nicht sehr breit, s. Tab. 7 und 8 auf S. 81 und 82.

Als Vorteil des Testverfahren nach Paesi et al. fand sich eine weitgehende Saisonunabhängigkeit zwischen den Monaten Februar und Mai. Die Ergebnisse des Standards NIH-FSH- S_3 von Anfangs- (1. Versuch) und Endphase (2. Versuch) des gesamten Untersuchungen haben gezeigt, daß der Unterschied in der ermittelten oder relativen Aktivität nur ca. 5% beträgt, s. S. 53, 81 und 82.

Da bis jetzt noch mehrere Standardpräparate im Gebrauch sind und bei der Auswertung verschiedene „Einheiten“ benutzt werden, wird der Vergleich der Ergebnisse verschiedener Zentren erschwert. Es können die vielen Umrechnungen erspart werden, wenn die verschiedenen Zentren sich auf ein Standardpräparat, z.B. NIH-Standards, und eine bestimmte

„Einheit“ einigen würden. Die Voraussetzung wäre eigentlich schon vorhanden.

In dieser Arbeit wurden Standardpräparate NIH-FSH-S₁, NIH-FSH-S₃ des National Institute of Health, Bethesda, Md., U.S.A. und 2.IRP des National Institute for Medical Research, Mill Hill, London verwendet. Es wurde festgestellt, daß die FSH-Aktivität von 1 mg NIH-FSH-S₁ nur noch die FSH-Aktivität von 0.3138 (0.2603 - 0.3757) mg NIH-FSH-S₃ enthält, die ursprünglich mit 0.9090 mg NIH-FSH-S₃ angegeben, d.h. die ursprüngliche relative Aktivität NIH-FSH-S₁ : NIH-FSH-S₃ wurde mit 1.1 : 1.0 angegeben, jetzt beträgt sie nur noch 1 : 0.3138. Die Abschwächung des NIH-FSH-S₁ wird auf mehrjähriger Lagerung zurückgeführt⁺. Die FSH-Aktivität von 1 mg NIH-FSH-S₃ entspricht der von 32.8000 (28.5000 - 37.9000) IE des 2.IRP. 40 IE 2.IRP = 1.2172 (1.0547 - 1.4025) mg NIH-FSH-S₃. Dieses Ergebnis stimmt mit den vorläufigen Daten des National Institute for Medical Research (40IE 2.IRP = 1.5 mg NIH-FSH-S₁) überein. Van Hell, Matthijsen und Overbeck (1964) fanden in dem Augmentationstest nach Steelman und Pohley, das NIH-FSH-S₁ 190 mal aktiver als das 1.IRP (HMG 24), d.h. 1 mg NIH-FSH-S₁ = 190 IE 1.IRP. Das Verhältnis von 1.IRP zu 2.IRP beträgt 7 : 1, was bedeutet 1 mg NIH-FSH-S₁ = 29 IE 2.IRP. Dieses Ergebnis war in Übereinstimmung mit dem von Albert (1961). Daraus ist zu sehen, daß die Ergebnisse aus vier verschiedenen Laboratorien in Übereinstimmung sind.

Die Meinungen, daß HCG eine FSH-Aktivität besäße, gehen noch auseinander. Collip, Selye und Thomson (1933); Selye, Collip und Thomson (1933); Leonard und Smith (1934b); Smith und Smith (1935) und Engle (1938) konnten im HCG aus Urin keine FSH-Wirkung nachweisen (hypophysektomierte

⁺ auch v. Bereswordt-Walrabe, fand den NIH-FSH-S₁ Standard unbrauchbar (persönliche Mitteilung).

Tiere). Dagegen fanden Guyénet (1946); Klebanow (1950); Hugget und Hammond (1952); Lyon, Simpson und Evans (1953); Vignes, Robey und Simonnet (1954); Crooke und Butt (1959) während der Gravidität auch FSH-wirksame Gonadotropine. Die ausführliche Studie von Diczfalusy (1953) hat ergeben, daß in der Plazenta keine messbaren Mengen FSH enthalten sind. Blobel (1966) fand nach dem Testsverfahren von Paesi et al. (1951) erst bei 1600 γ HCG 065 die Hodengewichtszunahme signifikant. Die Regression der Dosiswirkungskurve war jedoch anders als beim NIH-FSH-S₂ Standard. Ein Vergleich der FSH-Aktivität beider Präparate war deshalb nicht möglich. In dieser Arbeit wurden auch HCG-Präparate (Predalon und Primogonyl) auf ihre FSH-Wirkung untersucht. Es wurde ausser der Erhaltungsdosis von 120 IE HCG (Predalon) dazu bis zu 640 IE Predalon pro Tier verabfolgt. Die Gewichtszunahme der Hoden war nicht signifikant, s. S. 47.

Die Ansicht über das Mass an FSH-Wirkung von Stutenserumgonadotropin gehen in der Literatur auseinander. Während Abderhalden (1952), Hoffmann (1955), Williams (1955), Werth (1956), Jamburger (1957), Hané (1959), Lamond (1959), Jores (1960), Staemmler (1960), Voss (1960), Schmidt-Elmendorff, Loraine und Bell (1962) und Blobel (1964) eine relative hohe FSH-Aktivität nachgewiesen haben, finden Dörner und Hohlweg (1961) überwiegend ICSH-Aktivität. Unabhängig von der Relation FSH : ICSH ist jedoch die FSH-Aktivität von PMS bei hypophysektomierten Ratten unbestritten. Blobel (1964) fand nach dem modifizierten Testsverfahren nach Paesi et al. (1951), Testosteron anstatt HCG, 1 IE PMS = 17 γ NIH-FSH-S₅ und 11.5 γ NIH-LH-S₂ entsprechend. Nach unserer Untersuchungen ergab sich die FSH-Aktivität von 1 IE PMS (Predalon S) äquivalent der von 5.3100 (4.2800 - 6.6750) γ NIH-FSH-S₃ oder der von 0.1739 (0.1381 - 0.2229) IE Z.IRP. 1 IE PMS (Anteron) entsprach 2.2530 (1.9722 -

2.5725) γ NIH-FSH-S₃ oder 0.0748 (0.0651 - 0.0860) IE 2.IRP. Da Stutenserumgonadotropinpräparate nicht hinsichtlich ihrer FSH- und LH-Aktivität charakterisiert sind, lässt diese Differenz auf unterschiedliche FSH-Aktivitäten verschiedener Chargen schliessen, was durch möglicherweise unterschiedliches Ausgangsmaterial, aus dem das Hormon gewonnen wird, bedingt sein kann.

Aus den Ergebnissen der FSH-Aktivitätsbestimmung von HMG meint man zu ersehen, daß die Research-Präparate einschliesslich auch des ersten im Handel erhältlichen Präparats bei gleicher Deklaration in „Einheiten“ (1.IRP) Schwankungen unterworfen sind. Danach würden beispielsweise bei klinischer Auswertung von täglich 1000 „Einheiten“, wie sie von Daume und Kaiser (1964) für die Ovulationsauslösung bei Menschen empfohlen werden, FSH-Aktivitäten von 115, 135, 92 und 104 IE 2.IRP verabreicht.

Tabelle 9: FSH-Aktivität in 1000 „E“ HMG-Präparat

Charge	IE 2.IRP	
	rel.Aktiv.'Vertrauensgrenzen	
Res.P. 3605	41	(34 - 48)
Res.P.3835	115	(88 - 151)
Res.P. 3957	135	(107 - 172)
Res.P. 4116	92	(77 - 111)
Handelspräparat, Charge No.501879, Ampulle à 200IE	104	(84 - 128)

Wenn man die Vertrauensgrenzen der Ergebnisse berücksichtigt, zeigt sich jedoch, daß sich diese mit Ausnahme der Charge

Res. P. 3605 überschneiden. Diese Charge kann jedoch nach Lagerung über 3 1/2 Jahre überaltert sein und an Aktivität tatsächlich verloren haben. Der biologischen Aktivitätsbestimmung sind bezüglich der Aussage Grenzen gesetzt.

Die ermittelte Aktivität stellt die bestmögliche Schätzung der wahren Aktivität dar, die Vertrauensgrenzen mit einem Irrtumsrisiko von 5 % geben an, daß die wahre Aktivität höchstens in 1 von 20 gleichen Testen ausserhalb der Vertrauensgrenzen des vorliegenden Testes liegen würde.

Die praktische Bedeutung der Berechnung liegt auch darin, daß man zwei Resultate, die sich in ihren Vertrauensgrenzen überschneiden nicht als gesichert verschieden ansehen darf. Die Präparate Res. P. 3835, 3957, 4116 und Handelspräparat No. 501879 überschneiden sich jedoch in ihren Vertrauensgrenzen, sodaß die Unterschiede nicht als gesichert gelten können.

Die Aktivitätsbestimmung der Präparate aus Schafhypophysen SH₈₂₀ zeigt, daß in 17.5 mg Charge II 73.50 (56.00 - 96.25) IE 2.IRP und in 7 mg Charge III 72.1 (62.3 - 84.7) IE 2.IRP enthalten sind, FSH-Aktivitäten die bereits therapeutische Dosen für die Ovulationsauslösung darstellen (Daume, Athen im Mai 1966). Im Verhältnis zum NIH-FSH-S₃ Standard haben diese Substanzen, die in 17.5 mg 2.1560 (1.7570 - 2.6180) mg NIH-FSH-S₃ eine geringere Reinheit, jedoch ist nicht bekannt, ob Begleitsubstanzen dabei enthalten sind.

Für die Beurteilung der Ausbeuten verschiedener Aufarbeitsverfahren bzw. die Dialyseschritte hat sich der Test als gut brauchbar erwiesen. Die Überlegenheit der Dialyse gegen Titriplex gegenüber einer solchen gegen Wasser oder GSH (Gutation) konnte dadurch gesichert nachgewiesen werden, was an den sich nicht überschneidenden Vertrauensgrenzen zu erkennen ist. Für HHG 18 konnte dieser Beweis erbracht werden, für HHG 17 kann das jedoch nur vermutet werden, da der Test HHG 17 Titriplex nicht auswertbar war.

Es ist dies der einzige Test mit hypophysektomierten Tieren, der die Gültigkeitskriterien nicht erfüllte. Aus technischen Gründen konnte der Test nicht wiederholt werden.

G. ZUSAMMENFASSUNG

Bedeutung, Vorkommen, physikalisch-chemische sowie biologische Eigenschaften der Gonadotropine wurden einleitend dargestellt, dabei speziell die FSH-Aktivität und ihre Bestimmungsmethoden berücksichtigt.

In den vorgelegten Untersuchungen erwiesen sich für die FSH-Aktivitätsbestimmung intakte Rattenweibchen des Sprague-Dawley Stammes als unbrauchbar im Test nach Steelman und Pohley, während hypophysektomierte, hemiorchidektomierte Rattenmännchen des gleichen Stammes im Test nach Paesi, Wijnen und de Jongh gute Resultate lieferten.

HCG, PMS verschiedene Chargen von HMG und einen Schafhypophysenextrakt sowie unter verschiedenen Dialysebedingungen gewonnenes HHG wurden quantitativ auf ihre FSH-Aktivität mit diesem Test überprüft.

HCG war inaktiv, alle anderen getesteten Gonadotropine zeigten sich gut FSH aktiv, von menschlichen Hypophysenaufarbeitungen wurde in einer gegen Titriplex dialysierten Fraktion die grösste FSH-Ausbeute gefunden.

Als Vergleichssubstanzen dienten NIH-FSH-S₃ und 2.IRP, die Ergebnisse wurden mit ihren Vertrauensgrenzen und Präzisionsmassen sowie den Gültigkeitskriterien angegeben.

ANMERKUNG

Für die Präparate aus menschlichen Postmenopausen Harn wird der Firma Organon-OSS (Holland), für die Präparate aus Schafhypophysen der Firma Schering A.G. (Berlin) bestens gedankt.

Der NIH-FSH-S₁ und NIH-FSH-S₃ Standard wurde vom National Institute of Health, Bethesda, Md., U.S.A.; der 2.IRP Standard vom National Institute for Medical Research, Mill Hill, London, N.W. 7 freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

Die Arbeit erfolgte mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

I. LITERATURVERZEICHNIS

1. Abderhalden, R.: Die Hormone, Lehrbuch der Physiologie, S.151. Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1952.
2. Albert, A. and Kelly, S.: Studies on the biologic characterization of human gonadotropins. III. Comparison with sheep follicle-stimulating hormone. J. clin. Endocrin. 18: 216 (1958).
3. Albert, A.: Human Pituitary Gonadotropins, A Workshop Conference, Charles Thomas, Springfield, Illinois 158(1961).
4. Albert, A.; Derner, I.; Leiferman, J.; Stellmacher, V. and Barnum, J.: Studies on the biologic characterization of human gonadotropins. J. clin. Endocrin. 21:839 (1961a).
5. Apostolakis, M.: Experimentelle Grundlagen und klinische Bedeutung der Forschung auf dem Gebiet der menschlichen hypophysären Gonadotropine. Klin. Wschr. 39:453 (1961).
6. Apostolakis, M.; Bettendorf, G. und Voigt, K.D.: Klinisch-experimentelle Studien mit menschlichem hypophysärem Gonadotropin. Acta Endocrin. (Kbh.) 41:14 (1962).
7. Apostolakis, M. und Voigt, K.D.: Die Gonadotropine. Thieme, Stuttgart 1965.
8. Aschheim, S. und Zondek, B.: Hypophysenvorderlappenhormon und Ovarialhormon im Harn von Schwangeren. Klin. Wschr. 6: 1322 (1927).
9. Barnett, J.R.; Roth, W.D. and Salzer, J.: The histochemical demonstration of the sites of luteotropic hormone in the rat pituitary gland. Endocrinology 69:1047 (1961).
10. Bettendorf, G.; Apostolakis, M. und Voigt, K.D.: Darstellung hochaktiver Gonadotropinfraktionen aus menschlichen Hypophysen und deren Anwendung beim Menschen. III. Weltkongr. Internat. Federat. Gynäk. u. Geburtsh. Wien 1961, Berichte Bd. I/S. 76.
11. Bettendorf, G.: Beeinflussung der hypogonadotropen Ovarialinsuffizienz durch hypophysäres Human-Gonadotropin. Geburtsh. u. Frauenheilk. 22:928 (1962).
12. Bettendorf, G.; Apostolakis, M. und Voigt, K.D.: Darstellung von Gonadotropin aus menschlichen Hypophysen. Acta Endocrin. 41:1 (1962).
13. Bettendorf, G.; Breckwoldt, M.; Knorr, K. und Stegner, H.-E.: Gravidität nach Hypophysektomie und Behandlung mit hypophysärem Humangonadotropin. Dtsch. med. Wschr. 89:1952 (1964).

14. Bettendorf, G. und Breckwoldt, M.: Klinisch-experimentelle Untersuchungen mit hypophysärem Human-Gonadotropin. Arch. Gynäk. 199:423 (1964).
15. Bettendorf, G.: Die Ovulation, Physiologie und medikamentöse Auslösung. Arch. Gynäk. 1965.
16. Bettendorf, G.; Czygan, P.-J. und Breckwoldt, M.: Untersuchungen zur Reinigung und Auftrennung des hypophysären Human-Gonadotropins. Sonderdruck Geburtsh. u. Frauenheilk. Heft 5 im Mai 1966.
17. Bliss, C.J.: The statistics in Bioassay. Academic Press Inc. New York 1952.
18. Blobel, R.; Uhlig, H. and Schumacher, G.: Biochemical studies with human chorionic gonadotrophin (HCG). Acta Endocrin. (Kbh.) 42:67 (1962).
19. Blobel, R.: Probleme der Gonadotropinbehandlung. Vortrag auf der Tagung der Oberrheinischen Gesellschaft für Geburtsh. u. Frauenheilk. 24:813 (1964).
20. Blobel, R.: Über das Choriongonadotropin, S. Karger Basel/New York 1966.
21. Borth, R.; Diczfalusy, E. und Heinrichs, H.D.: Grundlagen der statistischen Auswertung biologischer Bestimmungen. Arch. Gynäk. 188:497 (1957).
22. Bourrillon, R. et Got, R.: Résolution d'une préparation gonadotrope sérique de jument gravide en plusieurs constituants et purification par électrophorèse de zone sur amidon. Acta Endocrin. (Kbh.) 24:82 (1957).
23. Bourrillon, R.; Got, R.; Bouguereau, J. et Marcy, R.: Sur une γ_2 -mucoprotéine du sérum de jument gravide et son rôle de transport de l'hormone gonadotrope. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 39:9 (1957).
24. Bourrillon, R.; Got, R. et Marcy, R.: Localisation et isolement de l'activité gonadotrope dans le sérum de jument gravide. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 40:1 (1958).
25. Bourrillon, R.; Got, R. et Marcy, R.: Preparation of a highly purified sample of the urinary gonadotrophin. Nature (London) 184:983 (1959c).
26. Bourrillon, R.; Michon, J. et Got, R.: La corpule glucidique de la gonadotropine du sérum de jument gravide. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 41:493 (1959d).
27. Bourrillon, R.; Got, R. et Marcy, R.: Isolement et quelques caractéristiques d'une gonadotrophine urinaire de ménopause homogène à l'électrophorèse. Acta Endocrin. (Kbh.) 35:225 (1960).
28. Breckwoldt, M.; Angulo, J.-M. und Bettendorf, G.: Gesamtgonadotropin, follikelstimulierende und luteinisierende Aktivität des hypophysären Human-Gonadotropin. Arch. Gynäk. 1965.

29. Brown, P.S.: The assay of gonadotrophin from urine of nonpregnant human subjects. *J. endocrin.* 13:59 (1955).
30. Brown, P.S.: Experimental Examination of an Assay for Urinary Follicle Stimulating Hormone. *J. endocrin.* 14:257 (1956).
31. Brown, P.S.: Urinary Gonadotrophins in Normal Men. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 32:272 (1959).
32. Butt, W.R.; Crooke, A.C. and Cunningham, F.J.: The use of ion-exchange materials in the fractionation of gonadotrophins from urine. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 32:309 (1959).
33. Butt, W.R.; Crooke, A.C. and Cunningham, F.J.: Studies on human urinary and pituitary gonadotrophins. *Biochem. J.* 81:596 (1961a).
34. Butt, W.R.; Crooke, A.C.; Cunningham, F.J. and Kovacic, N.: The biological assay of fractions of gonadotrophin from human pituitary glands. *J. endocrin.* 24:223 (1962a).
35. Butt, W.R.; Crooke, A.C.; Cunningham, F.J. and Wolf, A.: Biological and immunological properties of human pituitary follicle stimulating hormone obtained by starch gel electrophoresis. *J. endocrin.* 25:541 (1963).
36. Claessen, L.; Högberg, B.; Rosenberg, T. and Westman, A.: Crystalline human chorionic gonadotrophin and its biologic action. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 1:1 (1948).
37. Collip, J.B.; Selye, H. and Thomson, O.L.: Gonad-stimulation hormones in hypophysectomized animals. *Nature (London)* 131:56 (1933).
38. Cowie, A.T. and Folley, S.J.: Physiology of the gonadotrophins and the lactogenic hormone. In: *The hormones*, Bd. III, hrsg. von Pincus, G. and Thimann, K.V., Academic Press, New York 1955.
39. Crooke, A.C. and Butt, W.R.: The excretion of follicle stimulating hormone by pregnant women. *J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth.* 66:297 (1959).
40. Daume, E. und Kaiser, R.: Hormonanalytische Untersuchungen über die Ovarialstimulierung bei abgestufter HMG-HCG Dosierung. Sonderdruck Arch. Gynäk. Bd. 202 (35. Verhandlungsbericht d. Dtsch. Ges. f. Gynäk. München 1964). Bergmann München.
41. Daume, E.: Ovarialstimulierung mit tierischem hypophysärem FSH-aktivem Gonadotropin. Sonderdruck Geburtsh. u. Frauenheilk. Thieme, Stuttgart Mai 1966, Heft 5).
42. Dhom, G. und Tietze, H.U.: Zur experimentellen Histophysiologie der β -Zellen der Rattenhypophyse nach Untersuchungen mit der Perameisen säure- Alcianblau- Reaktion. *Endokrin.* 42:284 (1962).
43. Diczfalussy, E.; Holmgreen, H.J. and Westman, A.: The action of human chorionic gonadotropin preparations on the adrenal and testicle of hypophysectomized immature rats. *Acta En-*

nal and testicle of hypophysectomized immature rats. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 5:43 (1950).

44. Diczfalusy, E.: Chorionic gonadotrophin and oestrogens in the human placenta. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 12: Suppl. 12 (1953), 17:58 (1954).

45. Diczfalusy, E. and Loraine, J.A.: Sources of error in clinical bioassays of serum chorionic gonadotropin. *J. clin. endocrin.* 15:424 (1955).

46. Diczfalusy, E. und Heinrichs, H.D.: Gonadotropine und ihre Bestimmung. *Arch. Gynäk.* 187:556 (1956).

47. Diczfalusy, E.; Johannisson, E.; Tillinger, K.-G. and Bettendorf, G.: Comparison of the clinical and steroid metabolic effect of human pituitary and urinary gonadotropins in amenorrhoeic women. *Acta Endocrin. (Kbh.)*, Suppl. 90:35(1964).

48. Diczfalusy, E.; Högberg, B. and Westman, A.: Use of the ventral prostate in the assay of human chorionic gonadotropin. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 5:226 (1950).

49. Donini, P. e Marchetti, E.: Su alcune caratteristiche chimiche della gonadotropina ipofisaria umana e della gonadotropina corionica. *Farmaco* 7:418 (1952).

50. Donini, P.; Puzzuoli, D. and D'Alessio, I.: Purification of gonadotropin from menopausal urine by gel filtration on sephadex. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 45:329 (1964).

51. Dörner, G. und Daume, E.: Über die Wirkung der Hormonkombination follikelstimulierendes Hormon + Choriongonadotropin auf die Ovarien amenorrhoeischer Frauen. *Klin. Wschr.* 39:1260 (1961).

52. Dörner, G. und Hohlweg, W.: Zur Frage der FSH- und ICSH-Aktivität von Stutenserumgonadotropin. *Klin. Wschr.* 39:518 (1961).

53. Drescher, J.: Über chemische Differenzierung der Choriongonadotropine und des Stutenserumgonadotropins. *Zbl. Gynäk.* 76:996 (1954).

54. Drescher, J.: Experimentelle Untersuchungen über den biologischen und chemischen Charakter der Choriongonadotropine. III. Symp. Dtsch. Ges. f. Endokrin., Bonn März 1955; Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg 160 (1956).

55. v. Eickstedt, K.W.: Fermenthydrolyse und Ultrafiltration gonadotroper Hormone. *Naturwissenschaften* 43:353 (1956).

56. v. Eickstedt, K.W. und Hasselblatt, A.: Über die Beeinflussung gonadotroper Hormone durch unspezifische Substanzen. 5. Symp. Dtsch. Ges. Endokrin., Freiburg, März 1957.

In: Nowakowski, N.: *Hormone und Psyche, die Endokrinologie des alternden Menschen.* Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg 333 (1958).

57. Ellis, S.: A scheme for the separation of pituitary proteins. *J. biol. Chem.* 283:63 (1958).
58. Ellis, S.: Bioassay of luteinizing hormone. *Endocrin.* 68:334 (1961).
59. Emmens, C.W.: Statistical methods. In: *Hormone Assay* (C.W. Emmens, ed.), Academic Press 1950.
60. Emmens, C.W.; Claringbold, P.J. and Lamond, D.R.: Action of gonadotropins on the ovary. *Nature*, (London) 180:38 (1957).
61. Engle, E.T.: Gonadotrope Stoffe im Blut, Harn und anderen Körperflüssigkeiten. *Arch. Gynäk.* 166:131 (1938).
62. Erdheim, J. und Stumme, E.: Schwangerschaftsveränderungen der Hypophyse. *Beitr. path. Anat.*, Hgb. von Ziegler, Bd. 46:1 (1909).
63. Erzin, C.; Swanson, H.; Humphry, J.; Dawson, J. and Hill, F.: Beta and delta cells of human adenohypophysis: their response to adreno-cortical disorders. *J. clin. endocrin.* 19:621 (1959).
64. Evans, H.M.; Pencharz, R.J. and Simpson, M.E.: Maintenance and repair of the reproductive system of hypophysectomized male rats by hypophyseal synergist, pregnancy-prolan and combinations thereof. *Endocrinology* 18:607 (1934).
65. Evans, H.M.; Kohls, C.L. and Wonder, D.H.: Gonadotropic hormone in the blood and urine of pregnancy. *J. Amer. Med. Ass.* 108:287 (1937).
66. Evans, H.M.; Simpson, M.E.; Tolksdorf, S. and Jensen, H.: Biological studies of the gonadotropic principles in sheep pituitary substance. *Endocrinology* 25:529 (1939).
67. Evans, H.M. and Simpson, M.E.: Physiology of the gonadotrophins. In: Pincus, G. and Thiman, K.V.: *The Hormones*, Vol. 2, Acad. Press, New York 1950.
68. Everson, F.: Cytochemistry of the gonadotropic hormones, *Nature* (London) 162:651 (1948).
69. v. Dyke, H.B.; P'An, S.Y. and Shedlovsky, T.: Follicle-Stimulating Hormones of the Anterior Pituitary of the Sheep and the Hog. *Endocrinology* 46:563 (1950).
70. Fairweather, D.V.I. and Loraine, J.A.: Urinary excretion of human chorionic gonadotrophin in patients with hyperemesis gravidarum. *Brit. Med. J.* 5279:666 (1962).
71. Farquhar, M.G. and Rinehart, J.F.: Electron microscopic studies of the anterior pituitary gland of castrate rats. *Endocrinology* 54:516 (1954).
72. Fetzer, S.; Hillebrecht, J.; Muschke, H.-E. und Tonutti, E.: Hypophysäre Steuerung der interstitiellen Zellen des Rattenovariums, quantitativ betrachtet am Zellkernvolumen.

Zellforsch. 43:404 (1955).

73. Finney, D.J.: Statistical Method in Biological Assay. Griffin, London 1952a.

74. Finney, D.J.: Probit Analysis, 2.Ed. Cambridge Uni. Pr., London 1952b.

75. Fisher, R.A. and Yates, F.: Statistical Tables, 4.Ed. Oliver & Boyd, London 1953.

76. Fisher, R.A.: Statistical methods for research workers. 12. Ed. Oliver & Boyd, Edinburgh 1954.

77. Fluhmann, C.F.: Augmentation of rat ovarian weight induced by chorionic hormone. Proc. Soc. exp. Biol., New York 80:507 (1952).

78. Fraenkel-Conrat, H.L.; Simpson, M.E. and Evans, H.M.: Effect of cysteine on gonadotrophic hormones. J. biol. Chem. 130:243 (1939).

79. Fraenkel-Conrat, H.; Li, C.H.; Simpson, M. E. and Evans, H.M.: Interstitial cell stimulating hormone. I. Biological properties. II. Method of preparation and some physico-chemical studies. Endocrinology 27:793 (1940).

80. Frandsen, V.A. and Stakeman, G.: The excretion of hormones in cases of hydatidiform mole and chorionepithelioma. Acta Endocrin. (Kbh.) 45:81 (1964).

81. Futterweit, W.; Margolis, S.A.; Soffer, L.J. and Dorfman, R.I.: Effect of urinary gonadotropin inhibitor on the mouse uterine response to various gonadotropins. Endocrinology 72: 903 (1963).

82. Gaddum, J.H.: Reports on biological standards. III. Methods of biological assay depending on quantal response. Special Report Series, Med. Res. Council, London No.13, 1933.

83. Gaddum, J.H.: Bioassays and mathematics, Pharma. Rev. 5: 87 (1953a).

84. Gaddum, J.H.: Simplified mathematics for bioassays. J. Pharmacology 6:345 (1953b).

85. Gemzell, L.A.; Diczfalusy, E. and Tillinger, K.G.: Clinical effect of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). J. clin. endocrin. 18:1333 (1958).

86. Gemzell, C.A.; Diczfalusy, E. and Tillinger, K.G.: Further studies of the clinical effects of human pituitary follicle-stimulating hormone (FSH). Acta Obstet. Gynec. Scand. 38:465 (1959).

87. Genzell, C.A.: Induction of ovulation in the human by human gonadotrophins. In: Progress in gynecology. Grune & Statton, New York and London 1963.

88. Girons, H.S.: Données histochimiques sur l'hypophyse de *chamaeleo lateralis*, Gray 1831. Ann. Histochem. 4:115(1961);

- Particularités anatomiques et histologiques de l'hypophyse chez les synamata. Arch. Biol. (Liège) 72:211 (1961).
89. Got, R.: Physiologie de l'hormone choriale. Thèse présentée à la faculté des sciences de l'université de Paris (1959).
90. Got, R.; Levy, G. et Bourrillon, R.: Analyse immunoélectrophoretique de la gonadotropine choriale humaine. Experimentia (Basel) 15:480 (1959).
91. Got, R.: Récentes acquestions sur la gonadotropine choriale humaine. Path. Biol. 8:1583 (1960).
92. Got, R. et Bourrillon, R.: Criteres de pureté de la gonadotropine choriale humaine. Bull. Soc. Chim. biol. (Paris) 42:31 (1960).
93. Greep, R.C.; Fevold, H.L. and Hisaw, F.L.: Effects of two hypophyseal gonadotropic hormones on the reproductive system of the male rat. Anat. Rec. 65:261 (1936).
94. Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: The effect of pituitary gonadotrophins in the testicles of hypophysectomized immature rats. Anat. Rec. 78:88 (1940).
95. Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: Use of anterior lobe of prostate gland in the assay of metakentrin. Proc. Soc. exp. Biol. Med. 46:644 (1941).
96. Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: Gonadotropins of the swine pituitary. I. Various biological effects of purified thylakentrin (FSH) and pure metakentrin (ICSH). Endocrinology 30:635 (1942).
97. Griesbach, W.E.: Über die Darstellung von zwei Typen von Basophilen in der Rattenhypophyse. (Ein Beitrag zur Lokalisation der Hypophysenhormone.) Klin. Wschr. 31:926 (1953).
98. Groeschel, U. and Li, C.H.: On the carbohydrate moiety of ovine and human pituitary gonadotrophins. Biol. chim. biophys. Acta (Amst.) 37:375 (1960).
99. Gurin, S.; Bachmann, C. and Wilson, D.W.: Gonadotrophic hormone of urine of pregnancy. I. A simple method of extraction and purification. J. biol. Chem. 128:525 (1939).
100. Gusek, W.: Vergleichende licht- und elektronenmikroskopische Untersuchungen menschlicher Hypophysenadenome bei Akromegalie. Endokrinologie 42:257 (1962).
101. Guyénet, E.: Les deux actions gonadotropes de l'urine de femme en ceinte. I. Variations indépendantes des seuils acmogène et crinogène, Rev. Suisse Zool. 53:1 (1946).
102. Hamburger, C. and Johnsen, S.G.: Studies on Urinary Gonadotrophins. III. Qualitative Differences between Urinary Gonadotrophins of Young Males and of Postmenopausal Women. Acta Endocrin. (Kbh.) 26:1 (1957).
103. Hanč, O.: Hormone, S.456, Gustav Fischer, Jena 1959.

104. Hasenbein, G.: Zbl. Gynäk. 74:1048 (1952).
105. Hays, E.E. and Steelman, S.L.: Chemistry of the anterior pituitary hormones. In: The hormones, Bd.III, hrsg. von Pincus, G. and Thiman, K.V. Academic Press New York 1955.
106. van Hell, H.; Matthijsen, R. and Overbeck, G.A.: Effects of Human Menopausal Gonadotrophin Preparations in Different Bioassay Methods, Acta Endocrin. 47:409 (1964).
107. Herlant, M.: Cytochimie du lobe antérieur de l'hypophyse. Anat. Anz. 109 (1962). Erg.-Heft 562.
108. Hoffmann, F.: Sexualhormontherapie in der Gynäkologie, Johann Ambrosius Barth, Leipzig S.62 (1955).
109. Hoffmann, F.: Untersuchungen über die hormonale Regulation der Follikelreifung im Zyklus der Frau. Geburtsh. u. Frauenheilk. 21:554 (1961).
110. Holmes, R.L.: Gonadotrophic and thyrotrophic cells of the pituitary gland of the ferret. J. endocrin.25:495(1963).
111. Huggett, A.S.G. and Hammond, J.: Physiology of the placenta. Marshall's physiology of reproduction. III. Aufl., Longmans, London p. 300 (1952).
112. Jores, A. und Nowakowski, H.: Praktische Endokrinologie, 2.Aufl., Thieme, Stuttgart 1960.
113. Katzman, P.A.; Godfried, M.; Cain, C.K. and Moisy, E.A.: The preparation of chorionic gonadotropin by chromatographic absorption. J. biol. Chem. 148:501 (1943).
114. Kief, H.: Experimentelle Untersuchungen über die zelluläre Bildungsstätte des ACTH. Beitr. path. Anat. 116:541 (1956).
115. Klebanow, D.: Qualitative und quantitative Unterschiede im Prolangehalt von Plazenta und Decidua graviditatis. Zbl. Gynäk. 72:977 (1950).
116. König, V.L. and King, E.: Extraction studies of sheep pituitary gonadotrophic and lactogenic hormones in alcoholic acetate buffers. Arch. Biochem. 26:219 (1950).
117. Kracht, J.: Karyometrische Differenzierung der Bildungsstätten von STH und LTH in der Rattenhypophyse. Naturwissenschaften 44:15 (1957);- Zur Lokalisation der Hypophysenvorderlappenhormone. Zbl. allg. Path. Anat.97:24(1957).
118. Lamond, D.R.: Cessation of ovarian function in the immature mouse after hypophysectomy. J. Endocrin. 19:103 (1959).
119. Lauritzen, Ch.: Methoden, Möglichkeiten und klinische Bedeutung von Gonadotropinbestimmungen. Med. Klin. No.20 (1963).
120. Lauritzen, Ch.: Das Gonadotropin. Gynäk. Rdsch.No.3(1966).

121. Leonard, S.L. and Smith, P.E.: Hypophyseal-like qualities of the gonadotropic principle found in the urine of certain individuals. *Amer. J. Physiol.* 108:22 (1934b).
122. Li, C.H.; Simpson, M.E. and Evans, H.M.: Interstitial cell stimulating hormone; method of preparation and some physico-chemical studies. *Endocrinology* 27:803 (1940a).
123. Li, C.H.; Evans, H.M. and Wonder, D.H.: Electrophoretic homogeneity of pregnant mare serum gonadotrophin. *J. gen. Physiol.* 23:733 (1940b).
124. Li, C.H.: The chemistry of gonadotropic hormones. *Vitamines, Hormones* 7:223 (1949).
125. Li, C.H. and Pedersen, K.O.: Physico-chemical characterization of pituitary follicle stimulating hormone. *J. gen. Physiol.* 35:629 (1952).
126. Li, C.H.; Squire, P.G. and Groeschel, U.: Purification and properties of human pituitary follicle-stimulating and interstitial cell-stimulating hormones. *Arch. Biochem.* 86: 110 (1960).
127. Leznoff, A. and Davis, B.A.: The cytological localisation of human chorionic gonadotropin. *Canad. J. Biochem.* 41: 2517 (1963).
128. Linder, A.: *Statistische Methoden*, 2.Aufl. Birkhäuser, Basel 1951.
129. Linder, A.: *Planen und Auswerten von Versuchen*. Birkhäuser, Basel u. Stuttgart 1953.
130. Loraine, J.A. and Brown, J.B.: *J. Clin. Endocrin. a. Metabolism* 16:1180 (1956).
131. Lostroh, A.J.; Squire, P.G. and Li, C.H.: Bioassay of Interstitial Cell-Stimulating-Hormone in the Hypophysectomized Male Rat by Ventral Prostate Test. 62:833
132. Lunenfeld, B.: Treatment of anovulation by human gonadotropin. *J. Internat. Federat. Gynaec. Obstet.* Vol.1, No.3 July 1963.
133. Morris, C.J.O.R.: Chemistry of the gonadotrophins. *Brit. Med. Bull.* 11:101 (1955).
134. Nalbanow, A.V.; Meyer, R.K. and McShan, W.H.: *Endocrinology* 39:91 (1946).
135. Nydik, M.; Berry, R.J. and Odell, W.D.: Molecular weight of human chorionic gonadotropin as estimated by means of radiation inactivation of biologic activity. *J. clin. Endocrin.* 24:1049 (1964).
136. Paesi, J.A.; Wijnen, M. and de Jongh, S.E.: The FSH-content of the hypophysis as influenced by low concentrations of oestrogen. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 8:251 (1951).

137. Parlow, A.F.: A rapid bioassay method for LH and factors stimulating LH secretion. *Fed. Proc.* 17:402(1958).
- Bioassay of luteinizing hormone (LH/ICSH) by the ovarian ascorbic acid depletion method. In: Human pituitary gonadotropins. A. Albert ed., p.301 (Ch.C.Thomas, Springfield, Ill. 1961).
138. Payne, R.W.; Runser, R.H.; Hagans, J.A. and Morrison, R.D.: Assay of follicle-stimulating hormone in the hypophysectomized estrogen-treated female rat. *Endocrinology* 65:389 (1959).
139. Racadot, J.: Nouvelles recherches sur les types cellulaires du lobe antérieur de l'hypophyse du chat. *Bull. Ass. Anat. (Nancy)* 109:680 (1961).
140. Rimington, C. and Rowlands, J.W.: Serum gonadotrophin; preparation of stable concentrate from pregnant mare's serum. *Biochem. J.* 35:736 (1941).
141. Romeis, B.: Hypophyse. In: *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen*, Bd.VI/3, hrsg. von v. Möllendorff, W. u. Bargmann, W.; Springer, Berlin 1940.
142. Schmidt-Elmendorff, H.; Loraine, J.A. and Bell, E.T.: The effect of 6 m urea on the follicle-stimulating and luteinizing hormone activities of various gonadotrophin preparations. *J. Endocrin.* 24:153 (1962).
143. Schumacher, G.; Uhlig, H.; Blobel, R.; Mohr, E. und Schlumberger, D.: Physikalisch-chemische und biochemische Untersuchungen über Choriongonadotropin. *Naturwissenschaften* 47:517 (1960).
144. Segaloff, A. and Steelman, S.L.: The human gonadotrophins. *Recent Progress Hormone Research* 15:127 (1959).
145. Selye, H.; Collip, J.B. and Thomson, D.L.: On the effect of anterior-pituitary-like hormone on the ovary of the hypophysectomized rat. *Endocrinology* 17:494 (1933).
146. Shedlovsky, T.; Rothen, H.; Greep, R.O.; van Dyke, H.B. and Chow, B.F.: Isolation in pure form of interstitial cell-stimulating (luteinizing) hormone of anterior lobe of pituitary gland. *Science* 92:178 (1940).
147. Simpson, M.E.; Li, C.H. and Evans, H.M.: Synergism between pituitary follicle stimulating hormone (FSH) and human chorionic gonadotropin (HCG). *Endocrinology* 28:37 (1951).
148. Smith, G.V. and Smith, O.W.: Evidence for the placental origin of the excessive prolan of late pregnancy toxemia and eclampsia. *Surg. Gynec. Obstet.* 61:175 (1935).
149. Squire, P.G. and Li, C.H.: Purification and properties of interstitial cell-stimulating hormone from sheep pituitary glands. *J. biol. Chem.* 234:520 (1959).

150. Squire, P.; Li, C.H. and Anderson, R.: Purification and characterization of human pituitary interstitial cell-stimulating hormone. *Biochem.* 1:412 (1962).
151. Staemmler, H.-J.: Die Bedeutung des Zwischenhirn-Hypophysen-Systems für die Wirkungsentfaltung von exogenem Choriongonadotropin. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 20:6(1960b).
152. Staemmler, H.-J.: Die gestörte Regelung der Ovarialfunktion. *Physiologie, Experiment und Klinik.* Springer, Berlin 1964.
153. Steelman, S.L. and Pohley, F.M.: Assay of the follicle stimulating hormone based on the augmentation with human chorionic gonadotropin. *Endocrinology* 53:604 (1953).
154. Steelman, S.L. and Segaloff, A.: Recent studies on the Progress Hormone Research 15:115 (1959).
155. Swanson, H.E. and Ezrin, C.: The natural history of the delta cell of the human adenohypophysis: in childhood, adulthood and pregnancy. *J. clin. Endocrin.* 20:952 (1960).
156. Tonutti, E. und Fetzer, S.: Über Entwicklung und Differenzierung der glandotrop gesteuerten inkretorischen Gewebe beim Menschen. In: Nowakowski, H.: Probleme der fetalen Endokrinologie. III. Symp. d. Dtsch. Ges. Endokrin. S.1. Bonn, März 1955 (Springer, Berlin/Göttingen/Heidelberg 1956).
157. Vignes, P.; Robey, M. et Simonnet, H.: Recherches sur le dosage des gonadotrophines. I. Separation par chromatographie de deux principes gonadotropes dans l'urine de femme en ceinte. *Bull. Soc. Chim. biol.* (Paris) 36:1163 (1954).
158. Voss, H.E.: Die Hormone des Hypophysenvorderlappens. In: Fermente, Hormone, Vitamine. 3. Aufl. Bd. II (Hormone), hrsg. von Ammon, R. und Dirscherl, W.; Thieme, Stuttgart 1960.
159. Walter, K. und Wysocki, S.: Über die durch Unspezifische Substanzen bedingte Änderung der Quantitativen und Qualitativen Wirksamkeit von Gonadotropinen bei der Biologischen Aktivitätsbestimmung. *Acta Endocrin. (Kbh.)* 38:181 (1961).
160. Ward, D.N.; McGregor, R.F. and Griffin, A.C.: Chromatography of luteinizing hormone from sheep pituitary glands. *Biochem. biophysic. Acta (Amst.)* 32:305 (1959).
161. Werth, G.: Die Gonadotropen Hormone. *Arzneimittel-Forschung* 5:409,735 (1955); 6:79 (1956).
162. Williams, R.H.: The pituitary. In: Textbook of endocrinology. Hrsg. von Williams, R.H.; Saunders, Philadelphia u. London 1955.
163. Woods, M.C. and Simpson, M.E.: Purification of sheep pituitary follicle-stimulating hormone (FAH) by ion-exchange chromatography on diethylaminoethyl (DEAE)-

cellulose. Endocrinology 66:575 (1960).

164. Woods, M.C. and Simpson, M.E.: Pituitary control of the testis of the hypophysectomized rat. Endocrinology 69:91 (1961).

165. Albert, A.; Derner, I.; Stellmacher, V.; Leiferman, J. and Barnum, J.: Purification of pituitary gonadotropin from urine of postmenopausal women. J. clin. Endocrin. 21:1260 (1961b).

166. Albert, A.; Derner, I.; Stellmacher, V.; Leiferman, J. and Barnum, J.: Purification of pituitary gonadotropin from urine of eunuchs. J. clin. Endocrin. 22:996 (1962).

H. LEBENS LAUF

Ich, David Liang-Tie OEY, indonesische Staatsangehörigkeit, wurde am 2. Mai 1932 in Djakarta / Indonesien als Sohn des Ehepaares OEY Tjoen Goan - Selly Nio (geb.Thio) geboren.

In Djakarta, von 1937 bis 1940 und von 1942 bis 1943 war Volksschulbesuch. Erst im August 1945 konnte das Studium an der Oberschule fortgesetzt werden. 1951 Ablegung der Reifeprüfung.

In Australien, von Februar 1952 bis Oktober 1953 war wieder Oberschulbesuch in Queensland bis zur Erlangung der „Australischen Matriculation“ (Reifeprüfung).

Im akademischen Jahr 1954 studierte ich an der medizinischen Fakultät der „University of Queensland“ in Brisbane.

In Deutschland studierte ich ab Wintersemester 1955/56 Medizin an der Universität-München. Wegen notwendiger Sprachstudien und materieller Schwierigkeiten konnte ich erst am 23. Juni 1965 das Staatsexamen vollständig ablegen.

Im Herbst 1965 begann ich mit vorliegender Arbeit.

